

# **En jämförelse mellan amplifierad singelmolekylanalys och selektiv agar vid kontroll av hygienisering av avloppsslam**

*A comparison between amplified single-molecule analysis  
and standard agar when controlling sanitized sewage sludge*

*Julia Fransson*



SLU, Sveriges lantbruksuniversitet  
Fakulteten för naturresurser och lantbruksvetenskap  
Institutionen för mark och miljö

Julia Fransson

En jämförelse mellan amplifierad singelmolekylanalys och selektiv agar vid kontroll av hygienisering av avloppsslam

A comparison between amplified single-molecule analysis and standard agar when controlling sanitized sewage sludge

Handledare: Björn Vinnerås, institutionen för energi och teknik, SLU och Marcus Lindahl, institutionen för teknikvetenskaper, Uppsala universitet

Ämnesgranskare: Sigrun Dahlin, institutionen för mark och miljö, SLU

Examinator: Anna Mårtensson, institutionen för mark och miljö, SLU

EX0698, Självständigt arbete i markvetenskap inom Entreprenörskolan, 30 hp, Avancerad nivå, A1E  
Agronomprogrammet – inriktning mark/växt 270 hp

Institutionen för mark och miljö, SLU, Examensarbeten 2011:23  
Uppsala 2011

Nyckelord: amplifierad singelmolekylanalys, avloppsslam, Salmonella, hygienisering

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>



# INLEDNING TILL SJÄLVSTÄNDIGT ARBETE I MARKVETENSKAP INOM RAMEN FÖR ENTREPRENÖRSKOLAN

Detta självständiga arbete om 30 hp har gjorts inom ramen för Entreprenörskolan i Uppsala. Entreprenörskolan är ett ettårigt påbyggnadsprogram på långa naturvetenskapliga eller tekniska utbildningar och är ett samarbete mellan Uppsala universitet och Sveriges lantbruksuniversitet. Året innefattar 30 hp kurser och 30 hp självständigt arbete. Kurserna innebär fördjupning i affärsutveckling, marknadsanalys, immaterialrätt och affärsjuridik samt ledarskap och styrning. Det självständiga arbetet skrivs med två andra studenter som ett skarpt projekt för ett företag.

Uppdragsgivaren till detta självständiga arbete heter Q-linea AB och har sitt kontor i Science Park i Uppsala. Företaget grundades 2008 av forskare på Rudbeckslaboratoriet vid Uppsala universitet tillsammans med Olink AB och Uppsala universitets holdingsbolag UUAB. Q-linea utvecklar system och instrument för protein- och nukleinsyraanalys med applikationer framför allt inom detektion och identifiering av mikroorganismer. Företaget har kunder inom området Säkerhet, med detektion och identifiering av biologiska stridsmedel som huvudsyfte. Önskemål om att expandera kundbasen har lett till att Q-linea börjat titta på framförallt två områden: antibiotikaresistensbestämning och veterinärdiagnostik.

Uppdraget till detta självständiga arbete från Q-linea var att titta närmare på den veterinärdiagnostiska marknaden och se om Q-linea kan lansera ett instrument med god lönsamhet inom denna. För att uppfylla målen för magisterexamen med huvudområde markvetenskap gjordes en teknisk fördjupning om 7,5 hp inom markvetenskap. Detta gick ut på att jämföra Q-lineas metod och instrumentering med traditionella metoder vid analys av ammoniakhygienisering av avloppsslam.

Huvudarbetet analyserar den veterinärdiagnostiska marknaden på djupet. Dels görs en ingående analys av SVA, med djupgående intervjuer med nyckelpersoner, dels har en enkät skickats ut till ett antal mindre företag med relevant verksamhet. Litteratur om affärsutveckling samt om den veterinärmedicinska marknaden har inhämtats och en analys av Q-lineas instrument görs genom viktning av tekniska avvägningar, kundbehov och konkurrens på området. Avslutningsvis får Q-linea en bedömning av marknadens potential samt hur de ska uppnå produktöverlägsenhet.

Den tekniska fördjupningen utgörs av ett arbete som behandlar ammoniakhygienisering av avloppsslam. Arbetet har delats in i två delar. Dels undersöks det hur effektivt ammoniak avdödar *Salmonella* i avloppsslam vid två olika temperaturer och två olika koncentrationer, dels jämförs resultaten av detta från traditionell odling på platta och genom amplifierad singelmolekylanalys, vilket är den metod som Q-linea tillämpar i sitt instrument.

Eftersom arbetet utgörs av en studie i markvetenskap så ligger den tekniska fördjupningen först, följd av huvudarbetet kallat Bilaga A.



## ABSTRACT

Bringing back the nutrients from the city to the country is becoming increasingly important, as the world's stores of nutrients get more exhausted. Sewage sludge is an unapplied resource, rich in plant nutrients, which could replace parts of the commercial fertilizers used in Sweden today. Sewage sludge may contain large amounts of pathogens, such as *Campylobacter* and *Salmonella*, why use can cause severe spreading of infections, both to animals and humans. These pathogens have the ability to survive for a long time in soil and water and therefore some sort of treatment of the sludge is recommended before use. Sanitizing treatments used today includes pasteurisation, composting and addition of lime. These treatments are less suitable because of work environmental and economic reasons and therefore new methods are evaluated.

One such method is ammonia sanitization. At higher pH the major part of the ammonia is in its uncharged form,  $\text{NH}_3$ , which is the sanitizing agent, while at lower pH, it is ionised,  $\text{NH}_4^+$ , and constitutes an important plant nutrient. Urea is the world's most essential fertilizer and when in contact with the enzyme urease it decomposes into ammonia. The addition of ammonia or urea increase the sludge's value as a fertilizer, because of the higher amount of nitrogen incorporated.

Previous studies with ammonia sanitization in urine and faeces have shown effective inactivation of pathogens. The treatments consisted of additions of 0.5 - 2 % urea or ammonia at various temperatures (4-34°C), sanitizing the material from *Salmonella*, *Enterococcus* and *Ascaris* eggs. *Salmonella* is the most studied organism in sewage sludge and may appear in concentrations of  $10^7$  colony forming units (CFU) /g dw sludge.

For analysis of the effectiveness of the sanitization, the presence of microorganisms is measured in the material before, during and after the treatment. This is usually done by culturing on agar, a method that is highly time-consuming (often 3 days are required). Since the treatments are carried out in materials that are complex, it is difficult to find satisfactory alternative methods. One method that may be used is amplified single-molecule analysis. This study is a comparison of the the agar culturing and amplified single-molecule analysis as well as a study of how effective ammonia sanitization is when sanitizing sewage sludge. Therefore the experiment was divided into two parts; one where sanitization was measured by culturing *Salmonella* on agar and one where purified DNA from the samples were analysed with amplified single-molecule detection.

After addition of *Salmonella* to the sewage sludge, 2 % urea or 0.5 % ammonia was added and then the samples incubated in 24 or 14°C respectively. Samples were analysed on day 0, 1, 2, 5, 8, 12, 15 and 29. Both treatments resulted in efficient sanitization of the sewage sludge and riddance of *Salmonella*. For the urea treatment, 2 days were enough to achieve satisfactory reduction, while for ammonia, 10 days were sufficient.

In the part of the study with amplified single-molecule analysis, no bacteria were detected. The reason for this was that the padlock probes used did not fit the strain of *Salmonella* that was used. The method seems more suitable for analysis of more specific organisms, such as EHEC, and more research must be done on padlock probes for the method to work satisfactorily.





## SAMMANFATTNING

Återföringen av näring från stad till land blir allt viktigare i och med att världens förråd av näringsämnen tar slut. Avloppsslam är en outnyttjad resurs, rik på växtnäringsämnen, som skulle kunna ersätta delar av det mineralgödsel som används i Sverige idag. Avloppsslam kan dock innehålla stora mängder av sjukdomsframkallande mikroorganismer, t ex *Campylobacter* och *Salmonella* varför användning kan orsaka smittspridning både till djur och människor. Eftersom dessa mikroorganismer överlever länge i jord och vatten rekommenderas någon form av behandling innan avloppsslammet sprids. Hygieniserande behandlingar som används idag är bland andra pastörisering, kompostering och tillsatser av kalk. Dessa är av arbetsmiljömässiga och ekonomiska skäl mindre lämpliga varför nya metoder eftersträvas.

En sådan metod är ammoniakbehandling. Vid högt pH befinner sig den största delen av ammoniaken i sin oladdade form,  $\text{NH}_3$ , som är den som verkar hygieniserande, medan vid ett lägre pH så är den laddad,  $\text{NH}_4^+$ , och utgör ett viktigt växtnäringsämne. Urea är världens vanligaste försålda gödselmedel och i kontakt med enzymet ureas så sönderfaller det till ammoniak. Vid tillsats av ammoniak eller urea stiger materialets gödselvärde eftersom kväve har tillförts.

Tidigare försök i urin och fekalier har visat en effektiv avdödning av patogener med ammoniakhygienisering. Behandlingarna har utgjorts av tillsatser med 0,5-2 % urea eller ammoniak vid olika temperaturer (4-34°C) och har testats på tillsatser av *Salmonella*, enterococker och ascarisägg. *Salmonella* är den organism som är mest studerad i avloppsslam och har visat sig kunna uppnå en koncentration på  $10^7$  koloniformande enheter (CFU)/g ts slam.

Vid analyser av hygienisering mäts förekomsten av mikroorganismer i materialet innan, under och efter behandlingen. Detta sker oftast genom odling på agarplattor, en metod som är tämligen tidskrävande (3 dygn krävs ofta). Eftersom behandlingarna utförs i material som är komplexa är det svårt att hitta alternativa metoder, men en metod som kan vara aktuell är amplifierad singelmolekylanalys. I denna studie jämfördes amplifierad singelmolekyl analys med odling på agarplattor parallellt med att effekten av hygieniseringen mättes. Därför delades försöket upp i två delar, en där hygieniseringen mättes genom att odla *Salmonella* på agarplattor och en där DNA renades fram ur proverna och som det sedan utfördes amplifierad singelmolekylanalys på.

Efter att *Salmonella* tillsatts avloppsslammet fick bakterierna adaptera till materialet innan 2 % urea alternativt 0,5 % ammoniak tillsattes och proverna inkuberades i 24 respektive 14°C. Proverna analyserades dag 0, 1, 2, 5, 8, 12, 15 och 29. Båda behandlingarna gav effektiv avdödning av *Salmonella*. För urean räckte 2 dygns behandling för att uppnå tillfredsställande reduktion, medan för ammoniaken tog det 10 dygn.

I försöket med amplifierad singelmolekylanalys detekterades inga bakterier med anledning av att de hänglåsprober som användes inte passade den stam av *Salmonella* som användes. Metoden lämpar sig bättre för mer specifika organismer, som till exempel EHEC och mer forskning måste göras på hänglåsprober för att metoden ska fungera tillfredsställande.

## **FÖRORD**

Projektet är finansierat av Q-linea AB och SVA. Stort tack riktas till Anna Karman och Jenny Göransson på Q-linea samt till Björn Vinnerås och Jörgen Fidjeland på SVA/SLU.

## INNEHÅLL

SYFTE OCH MÅL .....	1
Begränsningar .....	1
BAKGRUND .....	1
TIDIGARE STUDIER .....	2
Avloppsslam .....	2
Hygienisering av avloppsslam – olika metoder.....	3
Ammoniak och urea .....	4
Indikatorbakterier .....	5
Tidigare studier av ammoniakhygienisering .....	5
Analysmetoder.....	6
Odling .....	6
Amplifierad singelmolekylanalys.....	7
Andra alternativ.....	8
MATERIAL OCH METOD.....	8
Försök 1 .....	9
Material, organismer och uppodling.....	9
Provtagning .....	9
Bearbetning av resultat .....	9
Försök 2 .....	9
Preparation av DNA.....	9
Material .....	10
Utförande.....	10
RESULTAT .....	12
Försök 1 .....	12
Försök 2 .....	13
DISKUSSION .....	14
Försök 1 .....	14
Försök 2 .....	14
SLUTSATSER .....	15
REFERENSER .....	17
Internetreferenser .....	18
Personliga meddelanden .....	18



## SYFTE OCH MÅL

Syftet med detta magisterarbete är att undersöka hur behandling med urea och ammoniak påverkar avdödningen av *Salmonella* i avloppsslam samt att studera huruvida amplifierad singelmolekylanalys är en analysmetod som är likvärdig med odling på agarsubstrat vid analys av hygieniseringen, med avseende på den framtagna datans överensstämmelse med datan från odlingen.

## Begränsningar

Arbetet behandlar hygienisering av avloppsslam kontaminerat med *Salmonella*. Detta skedde med 2 % urea vid 24°C och med 0,5 % ammoniak vid 14°C. Vid den amplifierade singelmolekylanalysen användes specialdesignade prover.

## BAKGRUND

Återföring av näringsämnen från stad till land blir allt viktigare, både ur miljö- och resurssynpunkt. Gruvbrytning och mineralgödseltillverkning kräver stora energiinsatser och näringen från avlopp läggs på olämpliga platser och orsakar övergödning. Den framtida försörjningen av fosfor är en betydande fråga, då det är ett näringsämne som är nödvändigt för allt liv och dessutom är en ändlig naturresurs; mängden brytbart fosfatmineral är begränsad. I avloppsslam finns inte bara fosfor och andra åtråvärda näringsämnen (främst kväve, kalium och svavel) utan även humusämnen, som verkar som viktiga jordförbättrare.

Avloppsslam är en restprodukt från hantering av avloppsvatten och återfinns i stora mängder framförallt på landets reningsverk. Enligt Naturvårdsverket producerar Sverige ca 1 miljon ton avloppsslam per år (Naturvårdsverket [www](http://www.naturvardsverket.se)). Av detta återförs 15 % till jordbruksmarken, och resterande mängder används huvudsakligen som deponitäckning, lagring och som anläggningsjord. På grund av höga halter av tungmetaller och patogena mikroorganismer utgör spridning av avloppsslam idag en allvarlig fråga. Men avloppsslam har ett högt näringsinnehåll och om en större andel kunde användas inom jord- och skogsbruket skulle det utgöra en mycket värdefull resurs; stora delar av det mineralgödsel som används idag skulle kunna ersättas. För att göra detta måste avloppsslammet hygieniseras på ett lämpligt sätt, något som även föreslås ska regleras i lag.

Naturvårdsverket la 2010 fram nya förslag på ny lagstiftning kring användningen av avloppsslam. Om förslaget går igenom, tas det i bruk 2012. Restriktionerna innebär att avloppsslammet delas upp i två klasser beroende på patogenförekomst, det måste vara < 1000 *E.coli* per g TS och 0 *Salmonella* i 25 g i både klass A och B, samt < 1000 *Enterococcus* per g TS för slam i klass A. Dessa restriktioner innebär kraftig reduktion av bakterier i infekterat avloppsslam och det finns idag ett antal olika metoder för att hygienisera materialet. Detta kan antingen ske genom värmebehandling eller på kemisk väg; genom tillsats av kalk, aska, syra eller ammoniak.

Det är en stor utmaning att på ett ekonomiskt och effektivt sätt hygienisera det avloppsslam som produceras i Sverige. Metoderna som används idag är i behov av diversifiering och utveckling för att möta dessa krav. Här utgör hygienisering med ammoniak ett intressant alternativ, då ammoniak dels förekommer i vattenlöslig form och dels sönderfaller från urea, vilket är det vanligaste kvävegödselmedlet i världen. I förhållande till andra metoder är ammoniakhygienisering billigt och lätthanterligt. Det har gjorts omfattande studier på hur effektivt ammoniak kan hygienisera urin och fekalier men det har inte gjorts lika utförligt på avloppsslam, varför detta är aktuellt.

*Salmonella* är en av indikatorbakterierna som regleras i Naturvårdsverkets förslag och därför en av de bakterier som ofta undersöks vid ammoniakhygienisering. Idag analyseras *Salmonella* i komplexa medier som träck eller avloppsslam genom att odlingar görs i flera steg i eller på selektiva medier. Att analysen måste göras i många steg och i medier som verkar selektivt beror på att bakterietillväxten i träck och andra komplexa medier är kraftig och det kan annars vara svårt att avgöra vad som är *Salmonella* och inte. Med den referensmetodik som tillämpas tar det tre dygn att avgöra om *Salmonella* påvisats eller inte.

Det finns ett fåtal andra analysmetoder för påvisande av bakterier, av vilka amplifierad singelmolekylanalys är en. Metoden introducerades på 1980-talet men är fortfarande under utveckling; om den visar sig kompetent skulle tiden för identifiering av patogener i komplexa provmaterial kunna minskas. Detta vore värdefullt inte bara inom forskningen utan även i rutindiagnostik.

## TIDIGARE STUDIER

### Avloppsslam

Avloppsslam är den olösliga rest som bildas när avloppsvatten behandlas i reningsverk. Det är ett jordliknande material som har bildats efter stabiliseringsprocesser och avvattning och är rikt på näringsämnen, framförallt fosfor. Sammansättningen på slammet varierar geografiskt och beror på hur stort upptagningsområdet är, om industriavfall ingår, och hur stor population som bor inom detta, men också på populationens diet, ålder och på klimatet (Cruz Espinoza 2010). I ett ton avloppsslam finns det ungefär 30 kg fosfor. Den totala mängden fosfor i avloppsslam per år i Sverige är ca 6000 ton, vilket utgör mer än 40 % av fosforinnehållet i det konstgödsel som används årligen i Sverige (REVAQ [www](http://www.revaq.se)). Eftersom avloppsslam inte bara innehåller mycket näringsämnen utan även har en hög halt av organiskt material bedöms det ur den aspekten som ett gott gödselmedel och jordförbättrare (Pettersson 1990).

Anledningen till att användningen av avloppsslam i dagsläget är begränsad beror på förekomsten av tungmetaller, organiska föroreningar och patogena mikroorganismer. Metallerna består av framförallt kadmium, men även arsenik, koppar, bly, kvicksilver och zink. De organiska föroreningarna är bland andra aldrin, dieldrin, heptaklor och lindan. Mikroorganismerna utgörs av bakterier (se tabell 1 för exempel på bakterier samt koncentration), virus, protozoer och parasitära maskar (Arthurson 2008).

Tabell 1 Koncentrationer av bakterier som återfunnits i avloppsslam. \*värde ej angivet

Bakterie <sup>1</sup>	USA, Carrington 2001 (CFU/g)	Sverige, Sahlström <i>et al</i> 2004 (CFU/g)	Kanada, Parmar 2001 (CFU/ml)
<i>Salmonella</i> spp.	10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup>	*	10 <sup>7</sup>
<i>Escherichia coli</i>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup> -10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>
<i>Enterococcus faecalis</i>	*	10 <sup>4</sup>	*
<i>Clostridiae</i> spp.	*	10 <sup>6</sup>	*

Hur stor risken är för smittspridning efter gödsling med avloppsslam beror på hur väl mikroorganismerna har klarat lagringen och spridningen och om de överlever förhållandena i marken. Parametrar som påverkar är fukt, pH och näringstillgång men framför allt tid och temperatur (Cruz Espinoza 2010, Nordin 2010).

Många av patogenerna som återfinns i avloppsslam är så kallade zoonotiska bakterier, det vill säga bakterier som har många olika arter som värdjur, däribland människa. *Salmonella* är en

zoonotisk bakterie och utgör den bakterie som är mest studerad i avloppsslam. Det har visat sig att den är vanligt förekommande (Arthurson 2008); vid provtagningar i nedbrutet avloppsslam har det i 55 % av fallen funnits *Salmonella* (Sahlström *et al* 2002). En typisk *Salmonella*-koncentration i obehandlat slam är  $10^2$ - $10^3$  koloniformande enheter (CFU)/g (Carrington 2001, se tabell 1), men Parmar (2001) uppmätte koncentrationer på  $10^7$  CFU/ml i Canada. *Salmonella* kan orsaka salmonellos, tyfoidfeber och paratyfoidfeber (Livsmedelsverket [www](http://www.livsmedelsverket.se)).

### **Hygienisering av avloppsslam – olika metoder**

Med anledning av de patogener som avloppsslam kan innehålla bör det hygieniseras innan det sprids i miljön. 2009 gav den svenska regeringen Naturvårdsverket i uppdrag att ta fram ett nytt förslag till en förordning för hur avloppsslam får användas. Om förslaget godkänns tas det i bruk i januari 2012.

Beroende på vad avloppsslammet ska användas till varierar hygieniseringsmålen. Naturvårdsverket (2010) föreslår möjligheten att dela upp hygieniseringen i två klasser; klass A (vilket har en högre hygieniseringsgrad) och klass B. Hygieniseringen ska leda till att mängden mikroorganismer sjunker under detektionskraven för att få sprida på åker eller i skogsmark (klass A) alternativt att de reduceras så mycket att det kan användas för till exempel anläggning av grönytor (klass B) (Naturvårdsverket 2010), se tabell 2.

*Tabell 2 Naturvårdsverkets regleringar i förslaget som lades fram 2010. Hygieniseringen ska delas upp i två klasser, A och B, där A har en högre hygieniseringsgrad än B*

	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Enterococcus</i>
Klass B	<1000/g TS	0 i 25 g ww	
Klass A	<1000/g TS	0 i 25 g ww	<1000/g TS

Det finns ett antal olika metoder för hygienisering. Hur effektiv hygieniseringen är beror på temperatur, varaktighet, pH och syretillgång. Hygienisering bör skiljas från stabilisering, vilket endast minskar lättillgängligt organiskt material och sänker vattenhalten, så att obehaglig lukt reduceras och koncentrationerna av mikroorganismer blir lägre (Vinnerås, pers).

De vanligaste metoderna för effektiv hygienisering är:

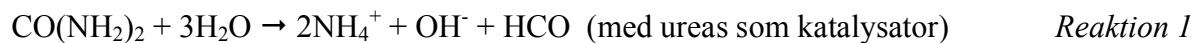
- Värmebehandling
  - Kompostering
  - Pastörisering
- Kemisk behandling
  - Kalkning
  - Tillsats av syra
  - Oxidering
  - Ammoniakbehandling

Vid kompostering krävs grundlig omrörning eftersom värmeutvecklingen som mikroorganismerna orsakar främst sker i mitten av komposten (Vinnerås 2007). Dessutom minskar det organiska materialet i slammet, vilket är negativt ur jordförbättringssynpunkt om slammet sedan används som gödselmedel (Vinnerås 2007). Pastörisering kräver tillsats av energi, Naturvårdsverket rekommenderar 70°C i minst 30 min (Naturvårdsverket 2010). Varken tillsats av syra eller oxidering är att rekommendera, då tillsats av syra är negativt eftersom materialet får ett lägre pH och därmed sänker gödselvärdet (växtnäringsämnen blir mindre tillgängliga vid lägre pH) och effekten av oxidering sprids ut vid förekomst av för mycket organiskt material (Vinnerås pers). Tillsats av kalk och aska bör vara i en sådan mängd att pH höjs till mellan 11 och 12 (Nordin 2010). Ammoniakbehandling är en lovande metod som beskrivs närmare nedan.

### Ammoniak och urea

Ammoniak är i sin joniserade form ( $\text{NH}_4^+$ ) ett värdefullt växtnäringsämne medan det i sin ojoniserade form ( $\text{NH}_3$ ) är skadligt för levande celler. Mellan dessa två finns det en jämvikt ( $\text{pK}_a = 9,2$  vid 25°C), vilken mycket beror på temperatur och omgivande pH. Med ökad temperatur och ökat pH ökar mängden  $\text{NH}_3$ . Ammoniak är en biprodukt som bildas vid all metabolism av kvävemolekyler, där inte minst proteiner ingår. I däggdjur lämnar denna biprodukt kroppen genom urinen i form av urea.

I kontakt med enzymet ureas bryts urea ned till ammoniak (se reaktion 1), vilket ger ett basiskt pH. Det beror på att ammoniaken (som är en svag bas) tillsammans med det karbonat som även bildas buffrar pH, som därav stabiliseras runt 9. Ureas återfinns bland annat i marken och i fekalier (Pettit *et al* 1976), reaktionen sker snabbare om mediet som ureaset befinner sig i är varmt (Throe & Thompson 1993).



Ammoniak är toxiskt mot mikroorganismer på olika sätt. Mekanismerna är inte helt utredda och varierar mellan olika mikroorganismer. Bakterier är generellt känsliga mot ammoniak medan dsRNA- och DNA-virus har visat sig vara mycket resistenta (Cruz Espinoza 2010). Varför ammoniak är toxiskt för bakterier är inte helt utrett men en teori är att när ammoniakgasen diffunderar in i cellen, vilket den gör eftersom det är en så pass liten molekyl, blir cytoplasman basisk. Detta kompenserar cellen genom att ta in protoner från utsidan på bekostnad av  $\text{K}^+$ . Bristen på  $\text{K}^+$  gör att cellen tillslut dör (Nordin 2010).

Under den hygieniserande processen konsumeras inte ammoniaken. Detta innebär att så länge behandlingen sker i en sluten behållare kvarstår den hygieniserande effekten (Vinnerås 2007). Efter tillsats av ammoniak har det därför inte rapporterats någon återväxt av någon bakterie (Vinnerås *et al* 2003).

Den ekonomiska kostnaden som det innebär att tillsätta ammoniak eller urea, blir låg eftersom tillsatsen höjer gödselvärdet och kvävet på så sätt återvinns. Ammoniak finns kommersiellt tillgängligt i vattenlöslig form och är därför lättare att blanda i avloppsslam än urea. Däremot är urea det mest använda kvävegödselmedlet i världen, det förekommer i lätthanterlig granulerad form och är helt ofarligt så länge det inte kommer i kontakt med ureas.



## Indikatorbakterier

För att analysera hur effektiv en hygienisering är så beräknas mängden patogener innan, under och efter behandlingen. Förekomsten av alla patogener kan dock inte analyseras då det skulle bli ekonomiskt ohållbart. I stället analyseras modellorganismer; bakterier eller virus som har egenskaper, inaktiveringsmönster, som liknar patogenerna som egentligen är av intresse att reducera. Ofta är det en variant inom samma familj eller art. Till exempel används bakteriofager, det vill säga virus som infekterar bakterier, som indikatorer för vissa virus som infekterar människor eller djur, eftersom de inte kräver levande vävnad för uppodling. De vanligaste indikatorbakterierna för material med fekal ursprung tillhör *Enterococcus* och *Enterobacteriaceae* (där *Salmonella* och *E.coli* ingår) (Nordin 2010).

## Tidigare studier av ammoniakhygienisering

Ammoniakhygienisering har studerats och konstaterats effektivt mot *Salmonella* i ett antal olika material. Studier har bland annat utförts i fekalier och urin (Nordin 2010) och götödsel (Ottoson *et al* 2008).

I Nordins (2010) sammanställning över fyra olika försök konstaterades det att *Salmonella* inaktiverades i alla urinspädningarna och i alla fekalieförsök medan kontrollerna hade kvar sina höga halter av bakterier. Det krävdes en ammoniakkoncentration på 20 mM i 80, 40, 20 och 10 dagar vid temperaturen 4, 14, 24 och 34°C respektive för en 6log<sub>10</sub> reduktion. Vid en högre temperatur gick hygieniseringen alltså fortare och om ammoniakkoncentrationen dubblades tog den hälften så lång tid. Inaktiveringstiden var den samma för patogenerna som tillhörde *Enterobacteriaceae* (*Salmonella* och *E.coli* i detta fall), vilket i så fall pekar på att hygieniseringen som krävs för dessa är likvärdig i fekalier och urin (Nordin 2006). I tabell 3 anges de behandlingstider som Nordin (2010) har kommit fram till behövs för behandling av fekalier (17 % TS) med olika koncentrationer av urea vid olika temperaturer. För 2 % urea vid 24°C uppgick Nordins D-värde (tiden för 1log<sub>10</sub> reduktion) till 0,3 dygn och i kontrollen (0 % urea 24°C) till 4,8 dygn.

Tabell 3 Behandlingstid för att uppnå påyrkad reduktion i *Salmonella*, *E.coli*, *Enterococcus* och *Ascaris* i fekalier vid ureabehandling (Nordin 2010)

Temperatur (°C)	Urea (% w/w)	<i>Salmonella/E.coli</i> (7log <sub>10</sub> )	<i>Enterococcus</i> (5log <sub>10</sub> )	<i>Ascaris</i> ägg (3log <sub>10</sub> )
			Långsam	
14	0	10 månader	minskning	-
	1	2 månader	14 månader	-
	2	2 veckor	8 månader	-
24	0	1,5 månader	7,5 månader	11 månader
	1	1 vecka	3 månader	7 månader
	2	<1 vecka	2,5 månader	2,5 månader
34	0	1,5 veckor	1 månad	1,5 månader
	1	<1 vecka	2,5 veckor	1,5 veckor
	2	<1 vecka	<2 veckor	<1 vecka

Ottoson *et al.* (2008) undersökte ammoniakhygienisering i nötgödsel med 12 % TS. Studien utfördes vid 4 och 14°C med *Salmonella* som indikatorbakterie. I alla behandlingarna inaktiverades *Salmonella*. En behandling av nötgödsel med 0,5 % ammoniak i mindre än en vecka föreslås vid både 4°C och 14°C, för att uppnå en 5log<sub>10</sub> reduktion. För 0,5 % ammoniak vid 14°C uppgick Ottosons D-värde till 0,4 dygn och i kontrollen (0 % ammoniak 14°C) till 8,3 dygn.

I avloppsslam förekommer *Salmonella* normalt i mängder om 10<sup>2</sup>-10<sup>3</sup> (Carrington 2001), även om större mängder har detekterats. Enligt den föreslagna förordningen från Naturvårdsverket (2010) så får ingen *Salmonella* finnas i 25 g avloppsslam. I Nordins (2010) försök med 2 % urea vid 24°C i fekalier tog en decimalreduktion mindre än en halv dag (5 timmar) och en 3log<sub>10</sub> reduktion, vilket skulle krävas i avloppsslam, tar då ca 15 timmar om inaktiveringstiden är densamma i avloppsslam som i fekalier.

Vid tillsats av 2 % urea till fekalier (17 % TS) ökade pH till ungefär samma nivåer (8,8-9,2) som om det tillsattes till gödsel med 12 % TS och ett initialt pH på 8,0 - 8,2 och om det tillsattes till avloppsslam med 28 % TS och pH 7,5. Detta indikerade att det inte finns någon relation mellan TS och pH, vilket motsäges av Allievi *et al* (1994), som efter studier på avloppsslam (10 % TS) hävdade att med utspädning med vatten ökade pH. Att TS-halten kunde förklara hur väl hygieniseringen fungerade kunde förklaras med att det blev svårare att fördela ammoniaken jämnt ju högre TS-halten blev.

Enligt Nordin (2010) kan det antas att *E.coli* och *Salmonella* inaktiveras med samma hastighet vid ammoniakhygienisering, det ska dock poängteras att detta är i fekalier. Det krävs en reducering på 3-4log<sub>10</sub> för att reducera *E.coli* till <1000 CFU/g som är kravet från Naturvårdsverket. Om inaktiveringshastigheten för *Salmonella* och *E.coli* är liknande i avloppsslam (i likhet med inaktiveringshastigheten i fekalier) är det fullt tillräckligt för att reducera *Salmonella* med 2-3log<sub>10</sub>, vilket krävs för att i teorin helt eliminera *Salmonella*. Om det tillfredsställer Naturvårdsverkets krav på en avsaknad av *Salmonella* i 25 g, är en fråga om hur homogent materialet är; var de få bakterier som finns förekommer (Nordin 2010).

## Analysmetoder

För att analysera förekomsten av bakterier före, under och efter de olika behandlingarna används i största utsträckning utodling på agarsubstrat. Det är det vanliga tillvägagångssättet i liknande forskning och i rutindiagnostik som har sin grund i fekalier och andra komplexa provmaterial. Detta är en metod som tar lång tid och därför vore andra mindre tidskrävande alternativ attraktiva. Nedan diskuteras odling, amplifierad singelmolekylanalys samt ett antal andra snabbmetoder som kan anses intressanta i sammanhanget.

## Odling

För att säkert påvisa *Salmonella* i träck och andra svåra medier görs odlingar i flera steg.

Av det misstänkt infekterade mediet tas 25 g och tillsätts en buljong som inte är selektiv. Denna inkuberas i 37°C i ett dygn. En bestämd mängd av detta tillsätts sedan ett selektivt medium i ett dygn i 41,5°C. Dygn tre finns det sedan två olika alternativ. Om metoden som beskrivs av Nordisk metodkommitté för Livsmedel används, vidtas ytterligare odling på fasta medier, en på xylose lysine deoxycholate (XLD) och en på brilliant green agar (BG). Odlingen varar ett dygn i 37°C på båda. Om *Salmonella* inte påvisas på XLD eller BG bedöms resultatet som ”*Salmonella* ej påvisats” medan om resultatet är positivt så föranleder det vidare biokemiska tester eller agglutinationstester.

Om metod två (ISO 6579) används droppas redan under dygn två delar av provet på modified semi-solid rappapport-vassiliadis agar (MSRV) och inkuberas i ett dygn. Om *Salmonella* misstänks efter detta sprids provet på XLD och BG-plattor. Om *Salmonella* inte misstänks inkuberas MSRV-plattan ytterligare ett dygn. Om *Salmonella* nu misstänks sprids provet på XLD och BG-plattor, om inte bedöms provet som ”*Salmonella* ej påvisats”. Om XLD och BG-plattorna visar *Salmonella* följer biokemiska (ofta PCR) eller agglutinationstester för typning av *Salmonella*.

Tidigast efter tre dygn kan ett kvalitativt svar ges.

(SVA www)

### ***Amplifierad singelmolekylanalys***

Enligt Jarvius *et al* (2006) har fluorescensbaserad singelmolekylanalys haft stor inverkan på biologisk och biokemisk forskning. Metoden introducerades i slutet på 1980-talet och ansågs då revolutionerande men har sedan dess inte uppfyllt förväntningarna som det ultimata verktyget för kvantitativ biomolekylanalys. Amplifierad singelmolekylanalys erbjuder möjligheten att visualisera och mäta reaktionen från individuella molekyler och är i teorin exakt i kvantifiering och känslighet. Metoden erbjuder dessutom möjligheten att söka efter både DNA-motiv och proteiner och tar i dagsläget bara några få timmar att genomföra med den instrumentering som finns.

Vid detektion av DNA-motiv måste provet först prepareras för att få fram enkelsträngat DNA. Detta görs för tillfället med ett kommersiellt prepareringskit för PCR, varefter provet kokas. DNA:t måste vara enkelsträngat för att hänglåsproben ska kunna binda till det. Hänglåsproben är uppbyggda av två ca 20 baspar långa primersekvenser i ändarna. Dessa är utvalda så att hänglåsproben böjs till en cirkel då de två primersekvenserna binder till DNA-motivet. Den totala bindande ytan är ungefär 40 baspar och hänglåsprobens storlek är totalt ca 90 baspar. Utöver primersekvenserna finns det i hänglåsproben ytterligare en sekvens för inbindning av en fluorofoer och en sekvens som möjliggör klyvning och primning. (Karman pers)

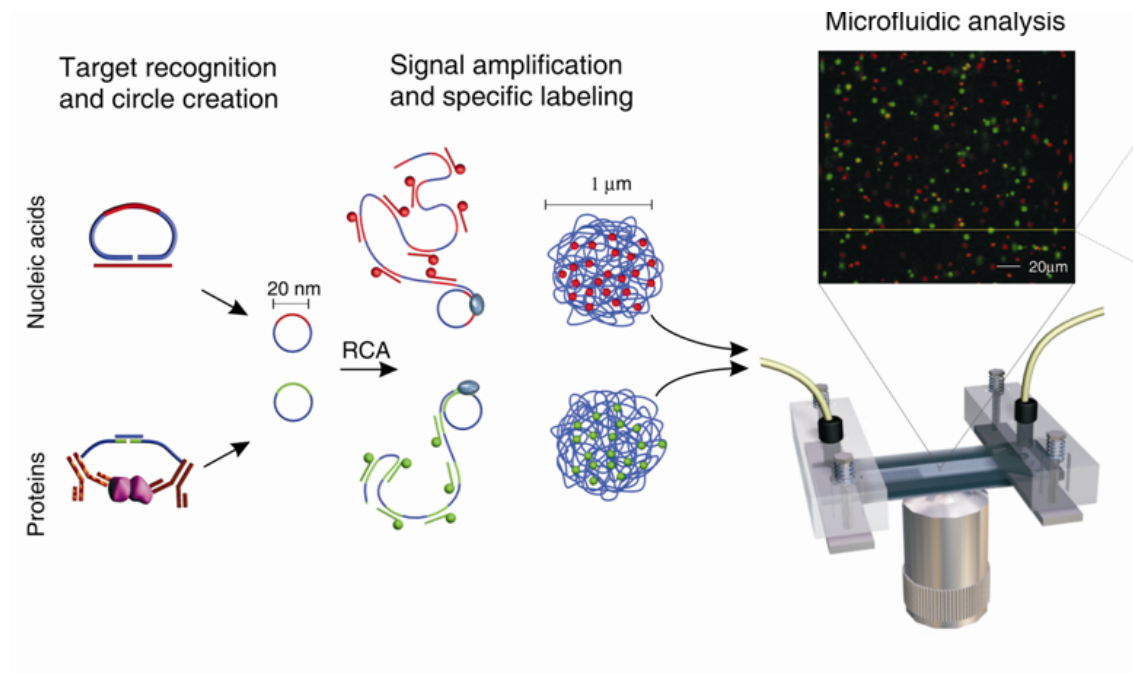
För att kunna genomföra RCA (rolling circle amplification) måste hänglåsprobens 5' och 3' (det vill säga de två olika ändarna i DNA-strängen) ända ligeras ihop så att hänglåsproben bildar en DNA-cirkel. Ligaset som genomför denna ligering är särskilt i 3'-änden mycket känslig för felaktig basparning mellan hänglåsproben och DNA-motivet. Detta är en av huvudanledningarna till att metoden har högre specificitet än PCR-baserade metoder. När cirkeln slutits amplifieras sedan cirkeln med ett RCA-polymeras som har bundit till den operade primersekvensen och frigjort hänglåsproben från DNA-motivet. Eftersom polymeraset arbetar i en cirkel upphör inte amplifikationen som den gör i en vanlig PCR. Resultatet blir därför en lång DNA-sträng där den komplementära sekvensen till hänglåsproben repeteras (se figur 1). (Jarvius *et al.* 2006)

Därefter tillsätts en fluorofoer som, med hjälp av den DNA-sekvens den är bunden till, basparar med en sekvens på hänglåsproben. Om RCA-polymeraset har fått tid att transkribera 1000 varv kan alltså 1000 fluorofoerer binda in till DNA-sekvensen vilket medför att den syns tydligt då den belyses med laser i detektionsmodulen. (Karman pers)

I detektionsmodulen flödar provet genom en kanal på 200x40 µm och belyses av lasrar med olika våglängder vilket även möjliggör multiplexing (flera motiv kan sökas samtidigt med olika hänglåsprober och olika färg på fluorofoererna). Ljuset som skickas ut från fluorofoererna detekteras av en kamera som skickar bilderna till en dator som via bildanalys räknar antalet

DNA-nystan. I det utförande som här har beskrivits motsvarar varje DNA-nystan en målmolekyl i provvolymen. (Karman pers)

I dagsläget är metoden inte helt färdigutvecklad. Hur preparationen av DNA:t ska gå till är inte klart, det är heller inte klart hur mycket spädning som kommer att behövas för att ligering och amplifiering ska gå att utföra. Detektionsnivå går därför inte att fastställa, däremot ökar känsligheten med tiden för amplifikation. (Karman pers)



Figur 1 Amplifierad singelmolekylanalys (Jarvius et al 2006).

### Andra alternativ

PCR, polymerase chain reaction, är en väl använd metod som innebär en ökning och påvisande av en känd DNA eller RNA-sekvens. Som metod är den känslig för inhiberande ämnen vilket det finns gott om i fekalier och avloppsslam, därför är reningen av DNA central för att metoden ska lyckas (Keramas *et al* 2004).

Microarray är en annan snabbteknik som baseras på att ett antal nukleinsyror hybridiserar med fluorescencmärkta nukleinsyror, vilka sedan scannas och möjliggör analys av den relativa koncentrationen av DNA (SMI *www*). Keramas *et al* (2004) har testat tekniken på avföring från kyckling vid detektion av *Campylobacter*, med tillfredsställande resultat.

Luminextekniken baseras på flödescytometrisk analys av små polystyrenkulor som binder till DNA-motiv vilka sedan mäts i ett instrument med hjälp av lasrar. Enligt Li *et al* (2010) har metoden stor potential för detektion av patogener i fekala prover.

## MATERIAL OCH METOD

Försöket har delats upp i två olika delar, i det första (försök 1) kontrollerades avdödningsgen genom odling på selektiva agarsubstrat och resultatet beräknades efter kolonibildning på dessa. I det andra försöket (försök 2) preparerades DNA fram ur proverna och amplifierad singelmolekylanalys utfördes. Resultaten från de båda försöken jämfördes sedan.

## Försök 1

### *Material, organismer och uppodling*

Avloppsslam hämtades från Uppsala Vatten Kungsängsverket och blandades tillsammans med *Salmonella* Typhimurium som tidigare isolerats från rötslam från samma reningsverk. Denna stam (fagtyp 178) har visat bättre överlevnad vid tidigare försök i jämförelse med laboriestammar (Nordin *et al* 2009). Bakterierna odlades upp i näringsbuljong (Oxoid; Sollentuna; Sverige). Mängden *Salmonella* uppgick till ca  $10^9$  CFU/ml buljong. Det infekterade avloppsslammet delades sedan upp i stomacherpåsar; halten *Salmonella* per g avloppsslam uppgick till ca  $10^7$  CFU/g. Bakterierna fick sedan adaptera till materialet i ungefär ett dygn innan 2 % urea alternativt 0,5 % ammoniak (w/w) tillsattes stomacherpåsarna. Proverna med urea inkuberades i 24°C och proverna med ammoniak i 14°C.

### *Provtagning*

Provtagning skedde dag 0, 1, 2, 5, 8, 12, 15 och 29. Vid varje tillfälle togs 3-5 g avloppsslam och spädades 1:9 i fosfatbuffert. Från denna spädning gjordes sedan en spädningsserie med fosfatbuffert (1 ml till 9 ml buffert) så långt som det krävdes, vanligen 4 ggr. 0,1 ml spreds ut på en XLD-agar (xylos lysin desoxycholat, Oxoid). Svarta kolonier räknades för referensvärden på antalet bakterier i provet. När behandlingarna hade reducerat antalet CFU så mycket att de inte längre kunde detekteras vid direkt odling på platta, anrikades dessa i Vasilidis Rappaport-buljong för att ange om det fanns bakterier kvar i proven.

### *Bearbetning av resultat*

Den linjära inaktiveringen gjordes genom att sätta upp den mikrobiska koncentrationen mot tid på en log-linjär skala. Statistisk signifikans testades med Excel Student's t-test i MS Excel för Mac OSx (Microsoft Corporation, Redmond, USA).

## Försök 2

### *Preparation av DNA*

För framtagandet av DNA ur materialet användes "Wizard Magnetic DNA Purification System for food" från Promega (Nacka). Ingen utspädning av provet gjordes utan ca 40 mg material togs direkt ur stomacherpåsarna. Det rekommenderade schemat modifierades till som följer:

- 40 mg material lades i 1,5 ml eppendorffrör
- 100 µl Buffer A och 1 µl RNase tillsattes, följt av vortex
- 50 µl Buffer B tillsattes, följt av intensiv vortex (10-15 s) och inkubering i rumstemperatur 10 min
- 150 µl Precipitation solution tillsattes, följt av vortex och centrifugering i 15 min på 13000g
- Supernatanten överfördes till nytt eppendorffrör

- 10 µl magnetkolor tillsattes supernatanten, följt av vortex
- 150 µl isopropanol tillsattes, följt av omrörning och inkubering i rumstemperatur i 5 min
- Eppendorffröret placerades på en magnet och vätskan togs bort
- 50 µl Buffer B tillsattes, följt av omrörning och borttagande av vätskan (på magneten)
- 200 µl etanol tillsattes för tvätt i tre omgångar och DNA:t torkades efter detta i 10 min i 65°C
- 50 µl nukleasfritt vatten tillsattes, följt av vortex och inkubering i 65°C i 5 min
- Eppendorffröret placerades på magneten och vätskan fördes över till ett nytt rör
- Provet kylades ner till 4°C

### Material

Vid den amplifierade singelmolekylanalysen testades fyra olika hänglåsprober; p2732, L9794, p5103 och p5104 (för sekvenser se bilaga 1). Behandlingarna med de olika hänglåsproberna skilde sig så att när p5103 och p5104 testades utfördes två amplifieringar för att öka uttrycket, medan för p2732 och L9794 utfördes endast en amplifiering. Detta innebar att protokollen såg något olika ut (se nedan). Hänglåsproberna testades på rent genom från *Salmonella* Typhimurium, en kontroll med avloppsslam och *Salmonella* i vilken varken urea eller ammoniak tillsats, en negativ kontroll med endast avloppsslam och en negativ kontroll (vatten). Vid positiva resultat på första och andra provet testades hänglåsproberna på resterande prover tagna vid varje provtagningstillfälle (samma som i försök 1). p2732 testades även på ett syntetiskt *Salmonella*-genom (templat).

### Utförande

Den amplifierade singelmolekylanalysen utfördes i tre steg: ligering, amplifiering och detektion.

#### Steg 1. Ligerings

Provet kokades i 100°C i 5 min för att göra DNA:t enkelsträngat och dela upp det i mindre bitar. Därefter tillsattes hänglåsproben och ligas (se komponenter i tabell 4). Lösningen ligerade i 55°C i 3 timmar.

Tabell 4 Komponenter i ligeringssteget

Komponent	Slutkoncentration	Volym (µl)
Prov		5
Hänglåsprob	500 pM	1
BSA*	0,2 µg/µl	1
Ampligasbuffert	1x	1
Ampligas	250 mU/µl	0,5
H <sub>2</sub> O		1,5

\*bovine serum albumin

## **Steg 2. Amplifiering**

RCA-polymeraset (phi29pol) tillsattes för att starta amplifieringen av de ligerade hänglåsproberna. Protokollet för p2732 och L9794 skiljer sig här åt från p5103 och p5104. För komponenter som tillsattes lösningen vid användning av p2732 och L9794, se tabell 5. Efter tillsatsen amplifierades lösningen i 37°C i 60 min och i 65°C i 1 min för avdödning av polymeraset. Härefter utfördes detektion på lösningarna innehållande p2732 och L9794.

*Tabell 5 Tillsatser till lösningen i amplifieringssteget med p2732 och L9794*

Komponent	Slutkoncentration	Volym (µl)
BSA	0,2 µg/µl	5
phi 29 buffer	1x	5
L10444(p2732)	5 nm	0,25
L10585(L9794)	5 nm	0,25
dNTP	125 µM	2,5
phi29polymeras	60 mU/µl	0,3
dH2O		26,7

För komponenterna som tillsattes lösningen vid användning av p5103 och p5104 se tabell 6. Lösningen amplifierades i 37°C i 40 min och polymeraset avdödades sedan i 65°C i 1 min.

*Tabell 6 Tillsatser till lösningen i amplifieringssteget med p5103 och p5104*

Komponent	Slutkoncentration	Volym (µl)
BSA	0,2 µg/µl	2
dNTP	125 µM	1
Primer Q33	25 nM	0,5
phi29 buffer	1 x	2
phi29polymeras	100 mU/µM	0,2
dH2O		11,3

Efter amplifiering, klipptes DNA-strängarna upp, för att i ett senare steg kunna göra en ny amplifiering. Klippningen utfördes i 37°C i 1 min och avdödades i 65°C i 1 min. Se tillsatser till lösningen i tabell 7. I det sista steget ligerades nya hänglåsprober ihop, amplifierades och märktes med fluoroforer. Detta utfördes i 37°C i 40 min och polymeraset avdödades i 65°C i 1 min (se tabell 8).

*Tabell 7 Tillsatser till klippningssteget med p5103 och p5104*

Komponent	Slutkoncentration	Volym (µl)
BSA	0,2 µg/µl	0,5
phi29 buffer	1 x	0,5
Alu1	120 mU/µl	0,3
replication oligo	120 nM	0,3
dH2O		3,4

*Tabell 8 Tillsatser i det kombinerade ligerings-, amplifierings och märkningssteget med p5103 och p5104*

Komponent	Slutkoncentration	Volym (µl)
BSA	0,2 µg/µl	2,5
ATP	0,67 mM	3,4
T4 DNA-ligas	14 mU/µl	0,7
Phi29buffer	1x	2,5
L10605	5 nM	0,25
dNTP	100 µM	1
Phi29polymeras	60 mU/µl	0,3
dH <sub>2</sub> O		11,29

### **Steg 3. Detektion**

Lösningarna kördes genom Aquila (Q-linea, Uppsala) för att med kamera detektera de fluorescerande DNA-nystanen. Med hjälp av bildanalys räknades dessa.

## **RESULTAT**

### **Försök 1**

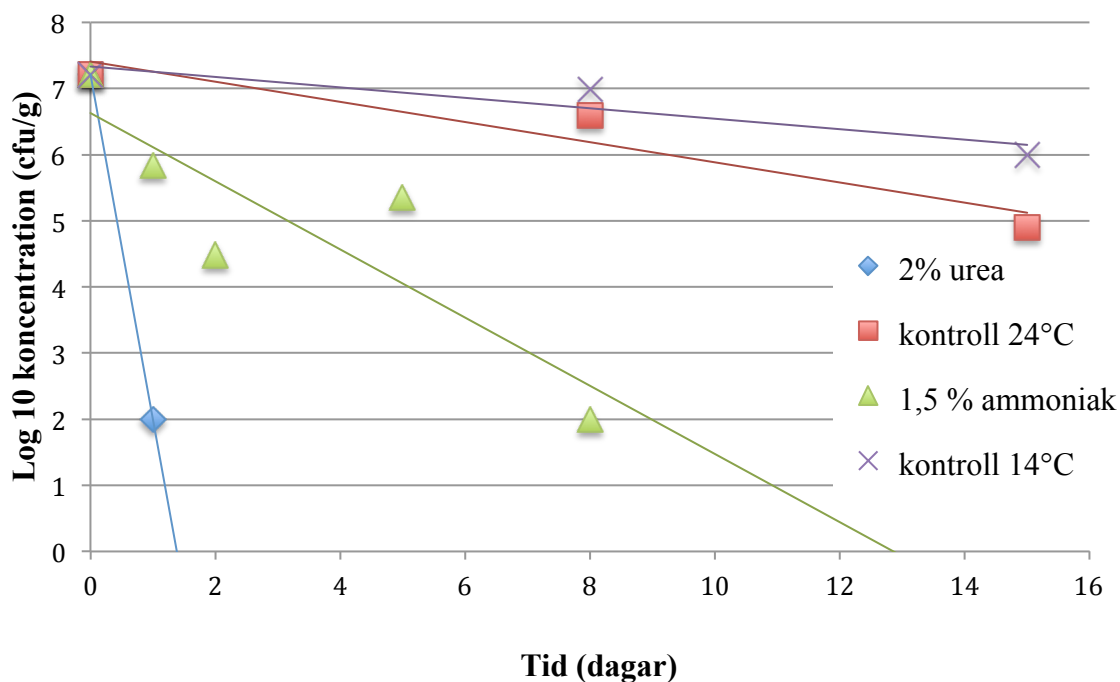
Avdödningskurvan var linjär från dag 0, både i kontrollerna och i behandlingarna (se figur 2) med undantag av 0,5 % ammoniak, där bakterierna till synes tillväxte mellan dag 2 och dag 5. I tabell 9 visas inaktiveringshastigheten och D-värdet för de olika behandlingarna. D-värdet uttrycker tiden i dagar för en logs, 90 %, reduktion. Behandlingen med 2 % urea var effektivast. Inaktiveringshastigheten var 35 gånger snabbare efter tillsats av 2 % urea i 24°C i jämförelse med kontrollen (24°C), och 7 gånger snabbare vid tillsats av 0,5 % ammoniak i 14°C i jämförelse med kontrollen (14°C).

Med hjälp av Student's t-test påvisades att ammoniak-behandlingen signifikant skilde sig från urea-behandlingen (1,5 %), samt att både urea och ammoniak-behandlingen signifikant skilde sig från sina respektive kontroller (båda 1,5 %) (urea – kontroll 24° C och ammoniak – kontroll 14°C).

*Tabell 9 Inaktiveringshastighet (log/dag) och D-värde för de olika behandlingarna*

	Inaktiveringshastighet (log/dag)	D-värde (dygn)
2% urea, 24°C	5,22	0,19
0,5% ammoniak, 14°C	0,52	1,94
Kontroll 24°C	0,15	6,56
Kontroll 14°C	0,08	12,66





Figur 2 Reduktion av *Salmonella* i behandlingar med 2 % urea (vid 24°C) och 0,5 % ammoniak (vid 14°C), logaritmerade värden.

## Försök 2

Inget av försöken med amplifierad singelmolekylanalys gav ett positivt utfall (se tabell 10). Nollkontrollen borde vara negativ liksom kontroll 2, då nollkontrollen endast bestod av vatten och kontroll 2 bestod av avloppsslam utan tillsatt *Salmonella* (under förutsättning att *Salmonella* inte förekom naturligt i materialet), resten av försöken skulle för ett positivt resultat vara positiva (det vill säga anges med en siffra på antalet räknade DNA-nystan). p2732 testades även med *Salmonella*-templat (syntetiskt DNA), vilket gav ett positivt utfall (7697 nystan/23 µl). I templatet beräknades en koncentration på  $3,3 \times 10^5$  CFU/ml. Hade försöket gett positiva resultat hade dessa lästs av mot en standardkurva som svarar mot en viss koncentration av DNA. Denna standardkurva kontrolleras med flera olika metoder, t ex kvantitativ PCR.

Tabell 10 Utförda försök med amplifierad singelmolekylanalys. "Genom" utgör genom från en ren *Salmonella*-odling, "kontroll 1" utgör avloppsslam med *Salmonella* utan behandling, "kontroll 2" är rent avloppsslam utan tillsats av *Salmonella*, "nollkontroll" är rent vatten och "templat" är syntetiskt *Salmonella*-genom

Prov	p2732	L9794	p5103	p5104
genom	neg	neg	neg	neg
kontroll 1	neg	neg	neg	neg
kontroll 2	neg	neg	neg	neg
nollkontroll	neg	neg	neg	neg
templat	7697	ej utförd	ej utförd	ej utförd

## DISKUSSION

### Försök 1

Ammoniak tillsatt i vattenlöslig form (vid 14°C) eller i form av urea (vid 24°C) visade sig effektiv i hygienisering av avloppsslam. Försök 1 indikerade att hygieniseringsgraden ökade med ökad temperatur och mängd tillsatt ammoniak, vilket även har visats i försök med fekalier och götödsel. För att få en  $3\log_{10}$  reduktion, vilket är det teoretiska kravet från Naturvårdsverkets förordningsförslag (baserat på att det normalt finns  $10^2$ - $10^3$  CFU/g *Salmonella* i avloppsslam och att bakterierna är homogent fördelade i materialet), krävdes behandling i 6 dygn med 0,5 % ammoniak vid 14° C och mindre än ett dygn med 2 % urea vid 24°C.

Inaktiveringshastigheten går att jämföra med Nordins resultat i fekalier. Efter tillsats av 2 % urea vid 24°C var Nordins D-värde något högre (0,3 dygn) i jämförelse med D-värdet från försök 1 (0,2 dygn). I kontrollen var dock Nordins D-värde lägre (4,8 dygn) än i försök 1 (6,6 dygn). Initialt är det fler bakterier i fekalier än i avloppsslam varför tiden till att nå Naturvårdsverkets krav inte går att jämföra mellan fekalier och avloppsslam. Men eftersom inaktiveringstiderna är snarlika tyder det på att *Salmonella* reagerar på ammoniakhygienisering på ungefär samma sätt i de båda materialen.

I jämförelse med Ottoson *et al*:s (2006) försök med 0,5 % ammoniak vid 14°C i götödsel skiljde sig D-värdena markant: 0,4 (Ottoson) och 1,9 (försök 1), liksom i kontrollen: 8,3 (Ottoson) och 12,6 (försök 1). TS-halten på götödslet i Ottoson *et al*:s försök uppgick till 12 % i jämförelse med avloppsslam som ligger på 28 %. Allievi *et al* (1994) hävdar att inaktiveringen av *Salmonella* är snabbare i material med lägre TS, eftersom det resulterar i ett högre pH, medan Nordin (2010) hävdar att TS och pH inte har någon påverkan på varandra. Jämförelser mellan försök 1 (inklusive kontrollerna) och Ottoson *et al* (2006) stödjer dock Allievi. Detta är dock bara indikationer eftersom det är för få försök, och den snabbare inaktiveringen i behandlingen med lägre TS kan helt enkelt bero på bättre fördelning av urea i materialet. Det är svårare att jämt fördela urea och ammoniak i material med en TS-halt som är högre än 20 % (Nordin *et al* 2009), varför ordentlig omrörning är avgörande. Mer grundläggande undersökningar på hur TS påverkar pH och hygieniseringen är nödvändiga.

I behandlingen med 0,5 % ammoniak var avdödningsen av *Salmonella* inte linjär; dag 5 uppmättes en högre halt av bakterier än dag 2. Detta tros bero på ammoniakförlust, vilket sänker effektiviteten på avdödningsen. Proven är oberoende av varandra, varför nästa prov i mätningen visar ett värde mer i enlighet med trendlinjen. Hade denna ammoniakförlust inte skett hade avdödningsen gått snabbare och D-värdet varit något lägre. Det är med andra ord av yttersta vikt att hygieniseringen sker i täckta behållare så att ammoniaken inte förloras som luftemission. Men detta faktum ger även en möjlighet då behandlingen fortgår även under transporten i tankbilar.

### Försök 2

Hänglåsproberna som användes i försöket var designade efter laboratoriestammar av *Salmonella typhimurium*. Då ingen av hänglåsproberna fungerade på den stam av *Salmonella* som isolerats från reningsverket torde problemet vara att den hade ett genom som skiljde sig alltför mycket från de stammar som hänglåsproberna designats för. Det kan alltså hävdas att proberna som användes inte var tillräckligt generella. Å andra sidan bör hänglåsproberna inte vara för generella då de kan binda till likartade bakterier som inte alls ska detekteras. Detta blir ett problem när organismer som är benägna att förändra sitt genom mycket ska detekteras, eller en stor grupp av organismer med relativt skilt genom söks. Genomet måste på förhand

vara känt, vilket kan vara svårt om organismen som eftersöks har muterat. *Salmonella* finns i många olika varianter som enligt försök 2 skiljer sig mycket från varandra, varför denna metod inte är optimal för detektering av just *Salmonella*. För detektion av mer specifika organismer som är relativt obenägna att mutera mycket och där genomet är känt torde metoden vara ett bra alternativ till traditionella metoder. Ett exempel på en sådan organism är *enterohemorragisk E.coli* (EHEC), där endast ett fåtal stammar inducerar sjukdom. Om metoden ska bli användbar måste mycket fokus läggas på framtagande av funktionella hänglåsprober.

Känsligheten i metoden är tidsberoende. Det vill säga att om tiden för amplifiering ökar, alternativt om dubbla ligeringar och amplifieringar görs, så ökar känsligheten. Ändå uppgår tiden inte till mer än några timmar från påbörjad DNA-framtagning till resultat, detta ska jämföras med tre dygn vilket analys av *Salmonella* tar med standardmetoder idag. Det är även svårt att bedöma hur hög den praktiska detektionsnivån på grund av utspädning blir när metoden är helt färdigutvecklad. Vid analys med plattor uppnås känsligheten 1 cfu/25 g. Detektionsnivån i amplifierad singelmolekylanalys blir i jämförelse med odling på plattor hög. I det här försöket blir spädningen hög och den reella mängden prov som testas är inte mer än 40 mikrogram. Vid amplifierad singelmolekylanalys ska i teorin ett prov inte behöva prepareras så mycket, i princip ska kokning för att ta sönder DNA:t räcka, vilket minskar behovet av utspädning – det blir i stället en fråga om att tillsätta tillräckligt många kvävebaser och andra tillsatser för att för att göra så många ligeringar och amplifieringar som det blir fråga om. I fall där en viss mängd av ett medium ska undersökas (t ex 25 g avloppsslam för kontroll av Naturvårdsverkets krav på avsaknad av *Salmonella* i 25 g) och det ska säkerställas att inga mikroorganismer finns i mediet, är ett alternativ att den givna mängden läggs i ett filterpapper, preparationsvätska hålls över och DNA:t samlas sedan upp i en behållare under, koncentreras och sedan körs allt genom detektionsmodulen. Ett annat alternativ är att anrika den givna mängden i ett anrikningsmedium så att 1 cfu per µl säkert uppnås (om mediet innehåller bakterier vill säga), om den sedan hittas när den körs genom detektionsmodulen är en fråga om amplifieringstid.

Om problematiseringen med design av hänglåsproberna hade lösts och försöken hade varit positiva hade ytterligare en aspekt behövts tas med. Ammoniak bryter inte ned biologiskt material; genomet hade funnits kvar i provet trots att bakterien hade varit inaktiverad. Detta hade lett till ett okänt antal falska positiva prov.

I fall med viabla men icke odlingsbara bakterier har metoden både för- och nackdelar. Om målet är att räkna hur många odlingsbara bakterier det finns i ett prov så infinner sig samma problem som med avdödade bakterier: de viabla men icke odlingsbara bakterierna räknas också. Dessa bakterier går dock inte att odla på agar, de har nämligen inte förmågan att tillväxa. Om målet är att upptäcka om det faktiskt existerar viabla men icke odlingsbara bakterier i ett prov så lämpar sig metoden väl.

## SLUTSATSER

- Behandling av avloppsslam med urea och ammoniak är ett effektivt sätt att hygienisera avloppsslammet.
- Tillsats av 2 % urea vid 24°C under ett dygn räcker för hygienisering av avloppsslammet.
- Metoden är också användbar för hygienisering av fekalier.
- Vattenhalten i materialet som ska hygieniseras påverkar hygieniseringsförloppet och behöver studeras närmare.

- Behållarna där hygieniseringen sker måste vara gastäta för att undvika ammoniakförluster
- amplifierad singelmolekylanalys är inte en effektiv metod för detektion av *Salmonella*.
- För att denna metod ska fungera måste fokus läggas på utveckling av hänglåsproberna.
- Metoden skiljer inte på döda och levande celler vilket försvårar användandet i syfte att fastställa hygieniseringsgrad

## REFERENSER

- Albihn A. & Vinnerås B. 2007. Biosecurity and arable use of manure and biowaste: treatment alternatives. *Livestock Science* 112, p. 232-239.
- Allievi, L., Colombi, A., Calcaterra, E., Ferrari, A. 1994. Inactivation of fecal bacteria in sewage sludge by alkaline treatment. *Bioresource technology* 49, p. 19-26.
- Arthurson V. 2008. Proper sanitisation of sewage sludge: a critical issue for a sustainable society. *Applied and environmental microbiology*. Sept 2008, p. 5267-5275.
- Carrington EG. 2001. Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction: final report. European commission. Report 5026/1.
- Cruz Espinoza L.M. 2010. Inactivation of *Ascaris suum* by Ammonia in Feces Simulating the Physical-Chemical Parameters of the Solar Toilet under Laboratory Conditions. Doctoral thesis. University of South Florida.
- Jarvis J., Melin J., Göransson J., Stenberg J., Fredriksson S., Gonzalez-Rey C., Bertilsson S., Nilsson M. 2006. Digital quantification using amplified single-molecule detection. *Nature methods*, vol 3, p. 725-727.
- Keramas G., Duong Bang D., Lund M., Madsen M., Bunkenborg H., Tellemann P., Christensen C. 2004. Use of Culture, PCR Analysis, and DNA Microarrays for Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Chicken Feces. *Journal of clinical microbiology*, vol 42, p. 3985-3991.
- Li W., Zhang N, Gong P., Cao L., Li J., Su L., Li S., Diao Y., Wu K., Li H., Zhang X. 2010. A novel multiplex PCR coupled with Luminex assay for the simultaneous detection of *Cryptosporidium* spp., *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis*. *Veterinary parasitology*, vol 173, p. 11-18.
- Matsuki T., Watanabe K., Fujimoto J., Miyamoto Y., Takada T., Matsumoto K., Oyaizu H., Tanaka R. 2002. Development of 16S rRNA-gene-targeted group-specific primers for the detection and identification of predominant bacteria in human feces. *Applied and environmental microbiology*. Vol 68, p. 5445-5451.
- Naturvårdsverket. 2010. Redovisning av regeringsuppdrag 21: Uppdatering av aktionsplan för återföring av fosfor ur avlopp. Dnr 525-205-09.
- Nordin A. 2010. Ammonia sanitisation of human excreta: treatment technology for production of fertiliser. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Nordin A., Ottoson J.R., Vinnerås B. 2009. Sanitation of faeces from source-separating dry toilets using urea. *Journal of applied microbiology*, p. 1579-1587.
- Ottoson J., Nordin A., von Rosen D., Vinnerås B. 2008. Salmonella reduction in manure by the addition of urea and ammonia. *Biosource Technology* 99, p. 1610-1615.
- Pettersson O. 1990. Avloppslam i jordbruket. *Fakta – mark/växter* 9.
- Pettersson S. 1994. Humanurin som växtnäringskälla - Kemisk sammansättning och gödslingseffekt. Master thesis. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Pettit NM., Smith ARJ., Freedman RB., Burns RG. 1976. Soil urease: activity, stability and kinetic properties. *Soil biology and biochemistry* 8, p. 479-484.
- Sahlström L., Aspan A., Bagge E., Danielsson-Tham M-L., Albihn A. 2002. Bacterial pathogen incidences in sludge from Swedish sewage treatment plants. *Water Research* 38, p. 1989-1994.

Semenov AV., van Bruggen A.H.C., van Overbeek L., Termorshuizen A.J., Semenov A.M. 2007. Influence of temperature fluctuations on *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in cow manure. *FEMS Microbiology ecology*, p. 419-428.

Vinnerås B. 2007. Comparison of composting, storage and urea treatment for sanitising of faecal matter and manure. *Bioresource technology* 98, p. 3317-3321.

Vinnerås B., Holmqvist A., Bagge E., Albiñ A., Jönsson H. 2003. The potential for disinfection of separated faecal matter by urea and by peracetic acid for hygienic nutrient recycling. *Bioresource technology*, p. 155-161.

WHO. 2006. Guidelines for the safe reuse of wastewater, excreta and greywater, vol 3.

### **Internetreferenser**

KemI. 2010. Ammoniak. Kemikalieinspektionen.

[<http://apps.kemi.se/flodessok/floden/kemamne/ammoniak.htm>] 2010-11-12.

Livsmedelsverket. 2010-02-02. Salmonella. [<http://www.slv.se/sv/grupp1/Risker-med-mat/Bakterier-virus-och-parasiter/Salmonella/Salmonella/>] 2010-09-14.

Naturvårdsverket. 2009-07-31. Siffror om avloppsslam.

[<http://www.naturvardsverket.se/sv/Verksamheter-med-miljopaverkan/Avlopp/Avloppsslam/Siffror-om-avloppsslam/>]. 2010-10-26.

REVAQ. 2009-09-28. REVAQ påståenden frågor och svar 090928.

[[http://www.svensktvatten.se/web/REVAQ\\_-\\_fragor\\_och\\_svar.aspx](http://www.svensktvatten.se/web/REVAQ_-_fragor_och_svar.aspx)]. 2011-03-01.

SVA. 2009-12-02. Om diagnostiken.

[[http://www.sva.se/sv/navigera/tjanster\\_produkter/Bakteriologi/Salmonella/Om-diagnostiken/](http://www.sva.se/sv/navigera/tjanster_produkter/Bakteriologi/Salmonella/Om-diagnostiken/)]. 2011-03-09.

Svenska foder. Mineralgödsel. [<http://www.svenskafoder.se/?p=2365>]. 2010-11-23.

SMI. 2010-09-04. Referensmetodik: microarray. Smittskyddsinstitutet.

[<http://www.referensmetodik.smi.se/w/Microarray>]. 2010-12-27.

### **Personliga meddelanden**

Vinnerås Björn. Associate professor, PhD, Department of Energy and Technology, Swedish University of Agricultural Sciences. 018-67 18 34. 2010-10-27.

Karman Anna. MSc Application Engineer. Q-linea AB, Uppsala. 018-444 36 16. 2010-09-02.

## **Bilaga 1.**

### **Hänglåsprober**

#### **p2732**

TTACCCGCAGAAGAAGCAGAGTGTACCGACCTCAGTAGCCGTGACTATCGACTAC  
TACGGATTCATGCGCTCTTAACCGCAGCAATTGACG

#### **L9794**

CGTCAATTGCTGCGGTAAAGAGCGCATGAATCCGTAGTAGTCGATAGTCACGGCT  
ACTGAGGTCGGTACACTCTGCTTCTTCTGCGGGTAA

#### **p5103**

AGTCCAAGCCGCTGGTGTATGCAGCTCCTCAGTAGTGGATAGTGTCTTACACGAT  
AATATGGATGGACCCT

#### **p5104**

GCTGCGGTTATTAACCAGTGTATGCAGCTCCTCAGTAGTGGATAGTGTCTTACAC  
GACGGGTAACGTCAATT





## Bilaga A

# Analys av den veterinärdiagnostiska marknaden

På uppdrag av Q-linea genom Entreprenörskolan



Författare:  
Johan Goude  
Julia Fransson  
Tomas Klingström

Handledare:  
Marcus Lindahl

Institutionen för teknikvetenskaper  
Uppsala Universitet  
Hösten 2010



## Sammanfattning

Q-lineas instrumentteknik är mycket väl lämpat för veterinärdiagnostik på laboratorier som ställer höga krav på snabbhet, precision och kvantifierbarhet. Detta arbete har syftat till att studera hur den veterinärdiagnostiska marknaden fungerar. Samt undersöka huruvida Q-lineas teknik har förmågan att ge kunder konkurrensfördelar gentemot konkurrenter som använder traditionella tekniker såsom qPCR och ELISA.

Marknaden för veterinärdiagnostik fungerar i dagsläget så att veterinärer tar prover som sedan skickas till Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) eller till privata laboratorier såsom Eurofins, Idexx eller Läckaby djursjukhus. En trolig framtida utveckling är ”point of care” där små billiga instrument används för att veterinären ska kunna ställa säker diagnos i fält. Denna utveckling hindras idag av de höga priserna på instrument. Ett instrument kostar i dagsläget 300 000 – 1 500 000 kr och har kapacitet för att hantera provsvar från flera hundra veterinärer. För att det ska vara lönsamt att ha ett instrument som följer en veterinär skulle en radikal prissänkning krävas.

Att övergå till att använda Q-lineas instrument innebär grundläggande kundfördelar i och med att det minskar arbetstiden per provsvar och antalet felaktiga provsvar. Dessa försäljningsargument används av de flesta instrumenttillverkarna vilket urholkar marknadsföringsvärdet eftersom kunder förväntar sig att höra dessa argument. Instrumentet innebär även flera signifikanta tekniksprång såsom förmågan att använda samma instrument för DNA- och antikroppsanalys, förmågan att kvantifiera mängden bakterier i ett prov samt förmågan att utläsa flera provsvar ur samma provvolym. Den korta analys tiden gör det även möjligt för laboratorier att garantera provsvar samma dag som de skickats in.

Den svenska veterinärdiagnostiska marknaden har en maximal potential på 10 instrument vilket är för litet för att finansiera Q-lineas utveckling av instrumentet. Detta innebär en kraftig ökad risk för Q-linea då framtida lönsamhet skulle vara beroende av att framgångsrikt kunna lansera instrumentet över ett större geografiskt område. En parallell studie genomförd av Q-linea visar att marknaden för antibiotikaresistensbestämning ger en bättre möjlighet till lönsamhet. Företagets framtida arbete med veterinärdiagnostik bör därför inriktas på att utnyttja marknadspotentialen för att erhålla en hög värdering vid förhandlingar med riskkapitalbolag. Alternativt licensera tekniken till en större instrumenttillverkare som kan marknadsföra instrumentet globalt.

## Abstract

Q-linea's instrumental technology is well suited to veterinary diagnostics that put high demands on speed, precision and quantifiability. The purpose of this work is to study how the veterinary diagnostic market functions, and also examine whether the Q-linea technology has the ability to give customers a competitive advantage over competitors using traditional techniques such as qPCR and ELISA.

The market for veterinary diagnostics is currently organized in the manner that veterinarians send samples to the National Veterinary Institute (SVA) or private labs such as Eurofins, IDEXX or Lückeby veterinary hospitals. Point of care analysis where small, inexpensive instruments are used by veterinarians to provide field diagnostics is considered the next step in veterinary diagnostics. This development is hampered by the high prices of instruments. An instrument currently costs in the range of 300 000-1 500 000 SEK and has the capacity to manage test results from hundreds of veterinarians. An instrument that is only used by a single veterinarian would require a significant reduction in price to be profitable for the users.

Shifting to the use of Q-linea's instrument involves basic customer benefits such as reduced working time per test result and reduction of the number of false test results. These marketing messages are used by all instrument manufacturers, who have eroded the marketing value of these messages. The instrument is therefore best sold by focusing on major points of difference such as the ability to use the same instruments for DNA and antibody analysis, the ability to quantify the amount of bacteria in a sample, and the ability to infer multiple test results from the same sample volume. The short analysis time also makes it possible for laboratories to promise to provide test results the same day as they are submitted.

The Swedish veterinary diagnostic market has a maximum potential of 10 instruments, which is too small to finance Q-linea's development of the instrument. This means a substantial risk increase for Q-linea since future profitability would depend on the successful launch of the instrument over a larger geographic area. A parallel study conducted by Q-linea shows that the market for determining resistance to antibiotics provides a more solid business case for Q-linea. The company's future efforts of veterinary diagnostics should therefore aim to exploit the potential of the veterinary market to obtaining a business value in negotiations with venture capital firms. Or to license the technology to a major instrument manufacturer that can market the instrument for veterinary diagnostics on a global scale.

<b>1</b>	<b>Inledning .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Bakgrund.....</b>	<b>4</b>
2.1	Q-lineas historik.....	4
2.2	Förklaringar av begrepp .....	5
2.2.1	Multiplexförmåga .....	6
2.2.2	Känslighet .....	6
2.2.3	Precision.....	6
2.2.4	Falska positiva och falska negativa .....	6
2.2.5	PCR.....	6
2.2.6	ELISA.....	6
2.3	Q-lineas teknik.....	7
2.3.1	Detektionsprocessen .....	7
2.3.2	Rolling circle amplification .....	8
2.3.3	Bildanalys .....	8
2.3.4	Protein istället för DNA.....	9
2.4	Q-lineas nuvarande utvecklingsstadium .....	10
2.4.1	Reagens.....	12
2.4.2	Mekanik och elektronik.....	12
2.4.3	Patent.....	12
2.4.4	Alternativa instrument .....	12
<b>3</b>	<b>Grundläggande förutsättningar för arbetet .....</b>	<b>13</b>
3.1	Problematisering.....	13
3.2	Syfte .....	13
3.3	Mål.....	13
3.4	Struktur.....	13
3.5	Teoretisk grund.....	14
<b>4</b>	<b>Metod .....</b>	<b>15</b>
4.1	Inhämtande av information .....	15
4.2	Intervjumetodik.....	16
4.2.1	Reflektion intervjumetodik.....	17
4.3	Enkätmetodik.....	17
4.3.1	Reflektion enkätmetodik.....	18
4.4	House of quality.....	18
4.5	Business case.....	19
4.6	Konkurrentanalys & marknadspositionering .....	19
<b>5</b>	<b>Den veterinärdiagnostiska marknaden.....</b>	<b>20</b>
5.1	Den veterinärdiagnostiska marknaden – en översikt.....	20
5.2	Hypotes: SVA som ledande användare .....	22
5.3	SVA .....	22
5.3.1	SVA:s uppdrag från Jordbruksverket.....	24
5.3.2	Påverkan på Q-lineas samverkan med SVA .....	25
5.4	Ackrediteringskrav inom veterinärdiagnostik .....	25
5.4.1	DNV:s (Det Norske Veritas) verksamhet.....	26
5.4.2	SWEDAC:s verksamhet .....	26

5.5	Spegling – laboratorier använda av veterinärkliniker .....	26
5.6	Marknaden för veterinärdiagnostik .....	27
5.6.1	Den nuvarande marknaden .....	27
5.6.2	Sannolika reaktioner från konkurrenter .....	29
5.6.3	Porters femkraftsmodell .....	30
6	Ekonomiska förutsättningar .....	31
6.1	Business Case, SVA.....	31
6.2	Finansieringsalternativ .....	33
6.2.1	Betalningslösningar för kunder .....	33
6.2.2	Varifrån kan Q-linea få finansiering för utvecklingen av sitt instrument.....	34
6.2.3	Utvecklingskostnader för ett instrument anpassat till veterinärdiagnostik.....	35
6.2.4	Vad skulle Q-linea kunna göra med 20 miljoner? .....	35
7	Avvägningar om SVA som kund .....	36
7.1	SVA som ledande användare.....	36
7.1.1	SVA som referenskund.....	36
7.1.2	Ledande användare och samarbetspartners.....	36
7.2	House of Quality .....	40
7.2.1	Kundbehov SVA (House of Quality's vänstra vägg) .....	40
7.2.2	Tekniska begränsningar i Q-lineas instrument.....	40
7.2.3	Konkurrenternas förmåga.....	41
7.2.4	Sammanfattning.....	43
7.3	Q-lineas positionering på marknaden .....	44
7.3.1	Ett instrument optimerat för SVA .....	45
7.3.2	Amplifikationstid kontra känslighet .....	47
7.3.3	Multiplexförmåga kontra känslighet .....	47
7.3.4	Känslighet kontra precision.....	47
7.3.5	Multiplexförmåga kontra flera andra funktioner .....	47
7.4	Produktöverlägsenhet .....	47
7.4.1	Medelväntetid för analyssvar .....	49
7.4.2	Antal provsvar levererade per arbetad timme.....	51
8	Marknadens värde i relation till alla andra marknader .....	54
8.1	Veterinärmedicin som sekundärmarknad .....	54
8.2	Marknadsvärdering .....	55
8.2.1	Marknadsvärdering Europa.....	56
8.3	Geografiskt närliggande marknader.....	56
8.4	Andra intressanta marknader.....	58
8.4.1	Point of care - mastit.....	58
8.4.2	Växtskydd .....	58
8.4.3	Andra mikrobiologiska laboratorier .....	58
8.4.4	Antibiotikaresistens i humanvård .....	59
9	Avslutning .....	59
9.1	Slutsatser .....	59
9.1.1	Marknadens potential .....	59
9.1.2	Förmåga till produktöverlägsenhet .....	60
9.2	Möjligheter att gå vidare .....	61

9.2.1	Nästa steg.....	62
<b>10</b>	<b>Referenser.....</b>	<b>63</b>
10.1	Skriftliga källor .....	63
10.2	WWW.....	65
10.3	Personliga meddelanden.....	68





# 1 Inledning

Bakterier och virus är en del av vår vardag. De finns överallt hela tiden och är både livsnödvändiga och dödligt farliga; våra kroppar lever i symbios eller i en evig kamp med dem. Denna kamp kan utnyttjas av illasinnade människor för att skapa epidemier och hot bland sina fiender, något som på sistone har blivit högst aktuellt. I dessa situationer kallas bakterier och virus för biologiska stridsmedel.

Oavsett om en person är sjuk eller om smittan befinner sig i omgivningen är det intressant att veta vad smittan består av för att kunna avgöra situationens allvar. Det är inte en enkel uppgift då svar behövs snabbt och noggrant, allt för att undvika smittspridning och möjliggöra spårning av farliga sjukdomar. Det finns olika metoder för att detektera biologiskt material, där bakterier och virus ingår. ELISA och PCR för protein respektive DNA är två vanliga och beprövade metoder, men som inte alltid fungerar tillfredsställande. Q-linea är ett företag som utvecklar instrument som baseras på en annan metod, denna metod härstammar från Olink från vilket Q-linea är ett avknopningsföretag.

Det instrument som Q-linea i nuläget utvecklar kommer att användas till detektion av biologiska stridsmedel. Försvarsmarknaden utgörs främst av långa utvecklingsprojekt och är svår att förutsäga då den till stor del styrs av hotbilden i världen. Bara några enstaka brev med mjältbrandssporer har stor påverkan på utgångsläget. Det är därför svårt att förutsäga hur marknaden kommer att förändras på sikt, vilket innebär en risk för Q-linea. För att öka intäktskällorna har Q-linea beslutat sig för att expandera utanför försvarsmarknaden.

Detta arbete är en analys av den veterinärdiagnostiska marknaden, som är en av flera marknader som Q-linea ser som en potentiell marknad att göra intåg på. Q-linea har även valt att arbeta vidare med marknaden för bestämning av antibiotikaresistens inom företaget vilket diskuterats tidigare i företagets ledning. Den största aktören inom veterinärmedicinsk analys i Sverige är SVA (Statens veterinärmedicinska anstalt) och därför undersöktes SVA djupgående, samt dess kunder och konkurrenter.

## 2 Bakgrund

### 2.1 Q-lineas historik

Q-linea utvecklar instrument och system för att snabbt identifiera och kvantifiera förekomst av specifika proteiner och DNA-sekvenser. I dess nuvarande utformning är syftet att skydda civila och militära mål från angrepp av biologiska agens såsom virus, bakterier och toxiner. Målet är att slutprodukten utgörs av ett instrument som kombinerar hårdvara, mjukvara och biokemiska tillvägagångssätt i ett komplett system. I dagsläget arbetar Q-linea på en prototyp och den första färdiga modulen kommer att levereras sommaren 2011.

Q-linea grundades 2008 av forskare från Rudbeckslaboratoriet och Uppsala Universitet i samarbete med Olink och Uppsala Universitets Utveckling AB (Uppsala Universitets holdingbolag, UUAB). Bakgrunden finns i teknik som har kommersialiserats av Olink och i Försvarets materielverks nanoteknikprogram, vilket var en satsning från FMV:s sida att lägga utvecklingen utanför FMV i stället för att rekrytera in ny personal. Olink var det enda

bioteknikföretaget som var med och presenterade en teknik som gick ut på att det var möjligt att detektera virus, bakterier och toxiner på under en timme. Detta ledde till uppstarten av ett nytt bolag; Q-linea. (Q-linea [www:a](http://www.q-linea.se)).

Q-linea är aktiva inom marknaden för skydd mot CBRN-attacker (CBRN står för kemiska, biologiska, radiologiska och nukleära stridsmedel). Nuvarande kunder är Försvarets materielverk och den franska försvarskoncernen Thales. Tack vare dessa och ett antal EU-projekt har Q-linea varit helt kundfinansierade från start. De EU-finansierade forskningsprojekten utgörs av:

- Q-detect: Q-linea anpassar och förbättrar teknologi för upptäckt och identifikation av växtpatogener.
- Twobias: Q-linea samarbetar med europeiska försvarsorganisationer för att implementera ett system för snabb detektion av farliga biologiska molekyler på plats.
- Diatools: Projektet syftar till att föra samman företag och akademiska institutioner för att kombinera kunskap och tekniska innovationer inom olika områden för att möjliggöra diagnostik av cancermarkörer. (Q-linea [www:b](http://www.q-linea.se))

Det är viktigt att hitta ny finansiering för överleva den utslagningsprocess som ofta sker då ett företag går från sina första innovativa kunder till mindre tekniskt visionära kunder. Utöver det arbete som denna rapport redovisar så undersöker Q-linea andra marknader och försöker få in ytterligare försvarskunder. Företaget har i dagsläget ingen renodlad säljavdelning men har nyligen tagit in en affärsutvecklare för att öka kompetensen inom projektledning och upphandlingar.

Kontoret ligger i Uppsala Science Park och lokalerna delas med Sigolis och QIAGEN. Idag har Q-linea elva medarbetare med kompetens inom bland annat biomedicin, molekylär bioteknik, elektroteknik, teknisk fysik och affärsutveckling. I förhållande till omsättningen har Q-linea många anställda vilket möjliggörs genom att flera arbetar deltid.

För att expandera kundbasen och öka lönsamheten vill Q-linea expandera inom andra marknader där kunden snabbt och specifikt vill kunna detektera och kvantifiera förekomst av proteiner eller specifika DNA-sekvenser. Själva tittar Q-linea främst på möjligheterna att expandera genom att sälja instrument för forskningsändamål och human antibiotikaresistens.

Q-linea har en stark tillväxt vilket kan ses i deras omsättningsökning från 2008 på 2,5Mkr, 2009 5,2Mkr och 2010 väntas omsättningen landa på ca 9,5Mkr. Trenden är nästan en dubbling varje år. Företagets soliditet (10 % 2009) och rörelsemarginal (2 % 2009) är siffror som inte är representativa då Q-linea förlägger resultatet av ett projekt till slutet av projektet och de fåtal projekt Q-linea har sträcker sig över flera år. Q-linea lägger vinsten på slutet av ett projekt eftersom det annars kan bli överbeskattade resultat. Detta kan uppstå när projektet är klart och det konstateras att budgeten var för optimistisk. En nackdel med denna redovisningsmetod är att soliditeten blir mycket låg, detta kan innebära problem vid projekt där deltagarnas ekonomiska situation utvärderas.

## 2.2 Förklaringar av begrepp

Nedan följer förklaringar på begrepp som är nödvändiga att förstå för att till fulla ta till sig resten av arbetet.

### 2.2.1 Multiplexförmåga

Multiplexförmåga innebär att kunna hantera flera provfrågor i samma prov utan att behöva dela provet i flera behållare. Som exempel skulle tvåplex innebära att instrumentet kan detektera både substans A:s och substans B:s förekomst i samma körning och i samma provrör. Fördelen med detta är att arbetsbelastningen minskar då laboratoriepersonalen inte behöver pipettera över provet i flera behållare, fler prover kan köras samtidigt och oftast kan förbrukningsmaterielskostnader sparas in.

### 2.2.2 Känslighet

Känslighet definieras som hur få av den sökta molekylen som behövs för att detektion skall kunna ske. Hög känslighet innebär att få molekyler behövs i provet för detektion av den sökta substansen.

### 2.2.3 Precision

Precision är hur specifikt ett instrument kan detektera den sökta molekylen. Med andra ord [antalet korrekta utslag] / [antalet utslag]. Det är vanligtvis en avvägning mellan precision och känslighet då det är svårt att särskilja svaga provsvar från bakgrundsbrus. Det är värt att notera att precisionen definierar risken att få falska positiva provsvar.

### 2.2.4 Falska positiva och falska negativa

Ett falskt positivt svar innebär att ett provsvar säger att molekylen som eftersöks finns i provet även fast det egentligen inte gör det. Ett falskt negativt svar betyder att provsvaret inte säger att molekylen finns i provet trots att den finns i provet. De falska negativa svaren är ett mycket allvarligare typ av fel då de kan innebära att instrumentet meddelar att ett smittoämne inte förekommer trots att det gör det egentligen.

### 2.2.5 PCR

PCR står för Polymeras Chain Reaction. Hela principen bygger på nedkylning och uppvärmning vilket via ett antal olika steg leder till att antalet sökta DNA-sekvenser dubblas under varje cykel. I fallet med Realtids-PCR mäts mängden nyskapade DNA-sekvenser i realtid via fluorescens som är proportionell mot mängden nyskapade DNA-sekvenser. Med en referens kan detektion ske efter hur många cykler referensen passerar mitten av detektionsområdet och med hjälp av detta kan antalet sekvenser bestämmas i originalprovet med ungefär en faktor 2-4 noggrannhet. Maximal multiplexförmåga är svårt att ange för denna metod. Känsligheten hos PCR är nere i området att statistisk fördelning av bakterierna kan ha relativt stor inverkan, ca 5 bakterier per prov är dock miniminivå.

### 2.2.6 ELISA

ELISA står för Enzyme-linked immunosorbent assay. ELISA är en antikroppsbasead metod som finns i många olika utföranden och används för att detektera biologiskt material, i första

hand antikroppar. Metoden är inte kvantitativ men kan ge en indikation om det förekommer mycket eller lite av det sökta biologiska materialet.

Det finns olika modeller av ELISA, de vanligaste är:

**Indirekt ELISA** – Provet som ska undersökas tillsätts till en brunn täckt med det antigen (det vill säga ett kroppsfrämmande ämne) som ska detekteras. Om det finns antikroppar mot antigenet i provet så binder dessa in till antigenet. Där efter tvättas brunnarna och sekundära antikroppar med inbundna enzymer tillsätts som binder in till de antikropparna som bundit till antigenet. Slutligen tvättas brunnarna igen och en färgvätska tillsätts som byter färg genom reaktion med enzymet på den sekundära antikroppen. Färgen avläses sedan för att bestämma om antikroppar fanns i provet eller inte.

**Sandwich ELISA** – Metoden liknar indirekt ELISA med undantaget att brunnarna är täckta av antikroppar i stället för antigen. Detta gör att man kan detektera antigen i stället för antikroppar. För övrigt fungerar konceptet på samma sätt.

**Kompetitiv ELISA** – Syftar till att mäta mängden antigen. Det görs genom en tillsats av en begränsad mängd antikroppar till provet som ska undersökas. I nästa steg tillsätts blandningen till en brunn med antigenet bundet av antikroppar till brunnens väggar. Om det är mycket antigen i provet finns det färre fria antikroppar som kan binda till antigenet i brunnen, därav namnet kompetitiv ELISA. I näst sista steget tillsätts sekundära antikroppar med enzym på och brunnen sköljs. Slutligen tillsätts ett ämne som via enzymet byter färg.

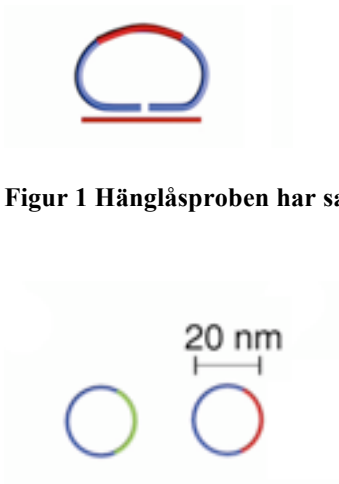
## 2.3 Q-lineas teknik

För en mer ingående beskrivning av tekniken se bilaga 1.

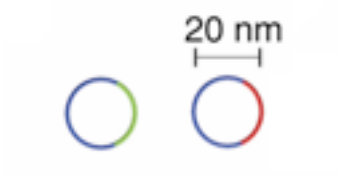
### 2.3.1 Detektionsprocessen

Q-lineas instrument har till uppgift att kunna detektera och identifiera biologiskt material såsom bakterier, virus och toxiner. Tekniken bygger på ett test om en viss DNA-sekvens eller ett visst protein finns i provet med hjälp av prober. En prob är en molekyl som används för att spåra andra molekyler, vid DNA-detektion utgörs proben av en DNA-sekvens som kan binda till den sökta DNA-sekvensen. Eftersom endast första steget i provprocessen ändras beroende på om det är en sökning efter DNA eller ett proteinmotiv så kan samma instrument användas för både DNA-detektion och proteindetektion.

Vid en sökning efter specifika DNA-sekvenser måste först cellen slås sönder och sedan värms provet upp så att cellens DNA blir enkelsträngat. Därefter tillsätts en egen enkelsträngad DNA-sekvens, själva proben (i detta fall en så kallad ”hänglåsprob”) som i vardera änden har en sekvens som basparar med den sökta DNA-sekvensen. Hänglåsproben bildar därigenom en DNA-cirkel med ett litet hål i när den binder till den DNA-sekvens som eftersöks (se figur 1). Genom att tillsätta ett enzym som klistrar ihop de två ändarna har en komplett cirkel skapats, denna kan kopieras med ett DNA-polymeras, ungefär som i PCR (se figur 2). Det enzym som klistrar ihop cirkeln kallas ligas och är mycket känsligt för felaktig basparning, detta är en av anledningarna till att metoden ger färre felaktigt positiva resultat än PCR-baserade metoder.



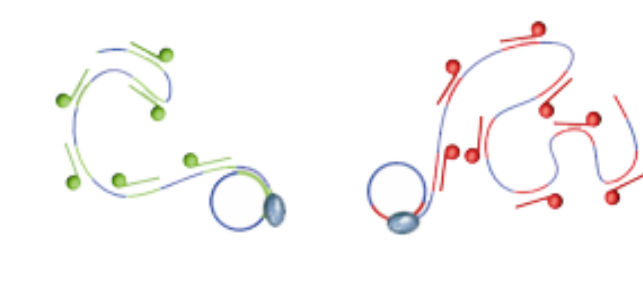
**Figur 1** Hänglåsproben har satt sig på den specifika enkelsträngade DNA-sekvensen.



**Figur 2** De två ändarna har klistrats ihop och en komplett cirkel har skapats.

### 2.3.2 Rolling circle amplification

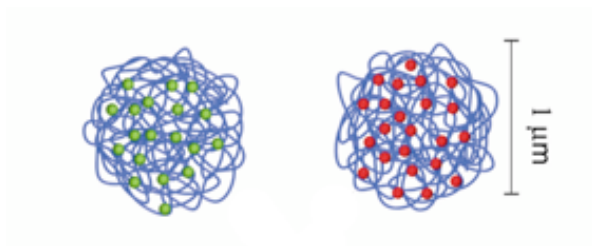
När DNA-cirkeln har skapats amplifierar man cirkeln med ett RCA-polymeras (rolling circle amplification). Eftersom polymeraset arbetar i en cirkel så upphör aldrig amplifikationen som den gör i en vanlig PCR. Resultatet blir därför en lång DNA-sträng där cirkelns sekvens upprepas (figur 3). Därefter tillsätts ytterligare en enkelsträngad DNA-sekvens som bär en flouorfor (en molekyl som fluorescerar när man belyser den med ljus i rätt våglängd). Den tillsatta DNA-sekvensen binder till en specifik sekvens på DNA-strängen och därför kan en flouorfor bindas för varje varv som RCA-polymeraset gör i DNA-cirkeln. En stor mängd DNA-sekvenser med flouorforer kan därigenom binda till den långa DNA-strängen.



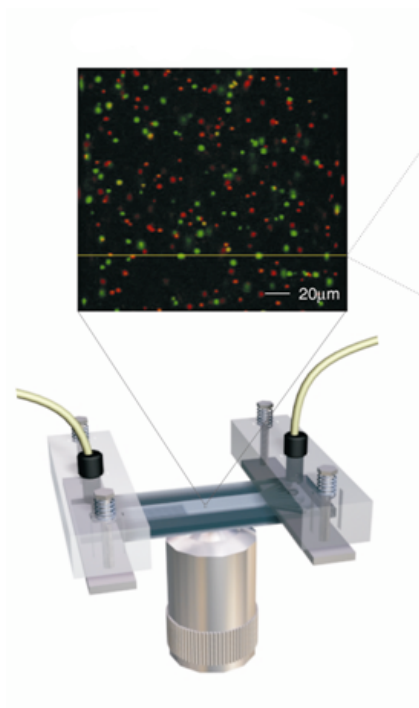
**Figur 3** Ett RCA-polymeras amplifierar cirkeln till en lång upprepad DNA-sekvens.

### 2.3.3 Bildanalys

Den långa DNA-strängen med inbundna flouorforer kommer av termodynamiska skäl dra ihop sig till ett nystan. Detta nystan lyser tillräckligt starkt för att synas i en kamera (figur 4). För att mäta antalet nystan körs provet igenom en tunn platt kanal som belyses med laser vilket gör att DNA-nystanen lyser upp som små punkter. Dessa punkter detekteras av kameran och informationen analyseras sedan med hjälp av en dator för att räkna antalet prickar och därigenom antalet målmolekyler i provet (bild 5). (Q-linea [www:c](http://www.q-linea.com))



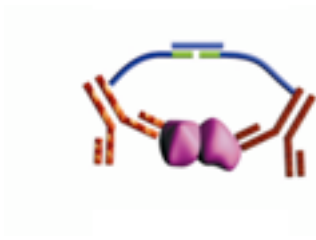
**Figur 4** Två DNA-nystan med fluoroforer på har bildats.



**Figur 5** Antalet nystan detekteras av en kamera och analyseras av en dator

#### 2.3.4 Protein istället för DNA

Vid sökning efter proteiner används istället för hänglåsproben, två antikroppar som binder specifikt till det sökta proteinet, i änden på vardera antikroppen finns en bit enkelsträngat DNA. Därefter tillsätts ytterligare två enkelsträngade DNA-sekvenser som kan binda ihop de två DNA-sekvenserna på antikropparna, förutsatt att de två antikropparna befinner sig i närheten av varandra. Den här närheten uppnås i praktiken endast när antikropparna har bundit till samma protein (alternativt till två proteiner i en proteininteraktion) vilket är en av anledningarna till metodens specificitet. Eftersom de två tillsatta DNA-strängarna binder till antikropps-DNA:t på ett sådant sätt att de bildar en cirkel (se figur 6) kan ligasenzym limma ihop hålen och därigenom få en cirkel precis som i DNA-fallet med ”hänglåsproben”. (Jarvius *et al* 2006, Melin *et al* 2007)

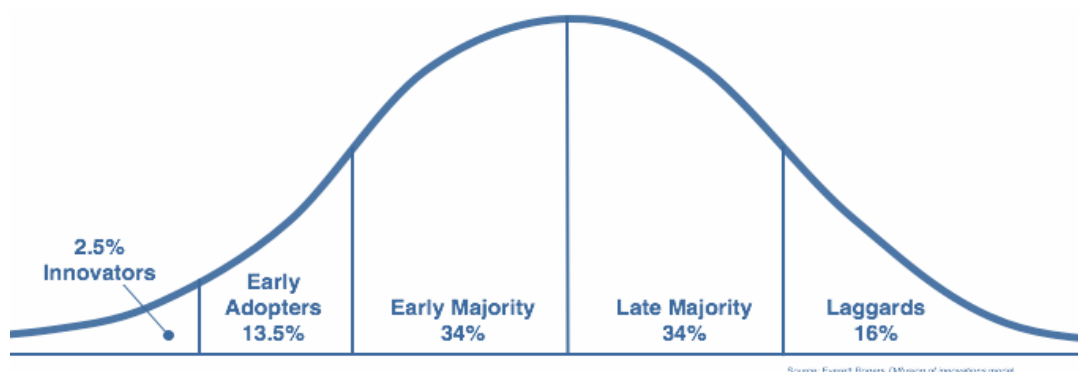


**Figur 6** Två antikroppar med DNA-sekvenser i ändarna, har bundit specifikt till en proteininteraktion och ytterligare två DNA-sekvenser binder ihop det hela till en cirkel.

## 2.4 Q-lineas nuvarande utvecklingsstadium

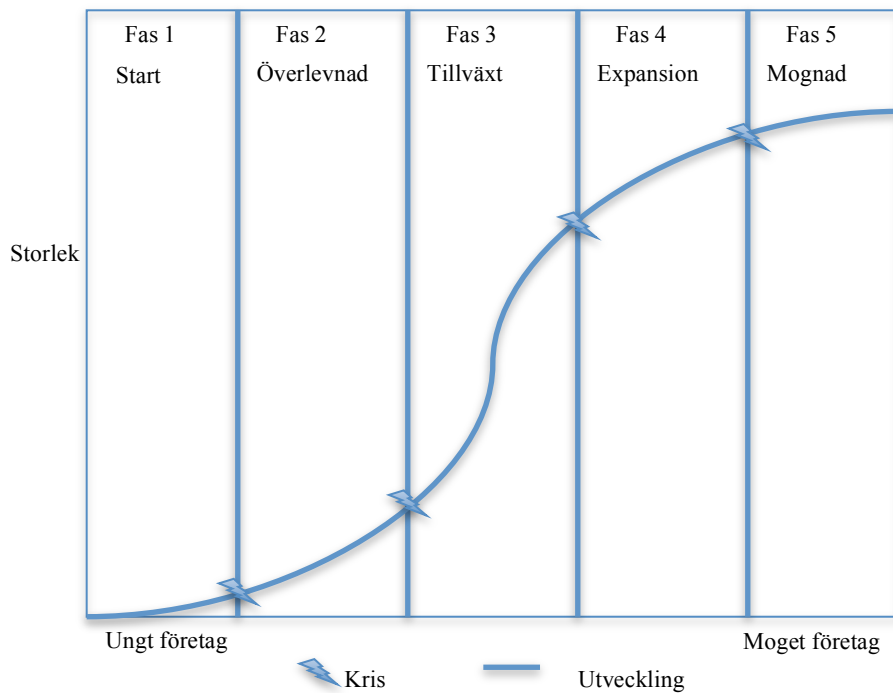
I dagsläget har Q-linea en fungerande prototyp men ingen fungerande färdig produkt. För tillfället fokuserar företaget på utvecklingen av instrumentet för Thalesprojektet, vilket innefattar reagens, mekanik och elektronik. Försvarsmarknaden och den veterinärdiagnostiska marknaden har olika krav vilket gör att om ett instrument för den veterinärdiagnostiska marknaden ska utvecklas så kan inte instrumentet för försvarsändamål kopieras.

Q-linea tillhör kategorin nyskapande entreprenörskap och utvecklar sin produkt från idé till en första kundinstallation. Företaget ligger således i den första fasen av "Technology adoption lifecycle" (figur 8). De kunder som intresserar sig för företag i denna fas är innovatörer. Optimalt är att röra sig från vänster till höger i kurvan, men så ser inte verkligheten ut. Det är en liten del av den totala marknaden som tycker ny teknik är intressant, så kallade visionärer som återfinns i fas ett och två, men att sedan förflytta sig till den tidiga majoriteten kräver helt andra referenser och relationer. När dessa relationer har skapats är dock den tidiga majoriteten en lojal kundgrupp (Moore 2006). Innovatörerna och de tidiga adoptörerna ser ofta en stor avkastning på investerat kapital och är på grund av detta beredda att ta stora risker. Värt att notera är att det inte är så ofta som dessa sprider kunskapen vidare, då de är mer intresserade av de utforskade kunskapsområdena och har hög egen kompetens inom området (Bohlen & Beal 1957). Som exempel kan nämnas att den franska försvarsindustrin anses som den mest framstående i världen, och de har tagit en stor risk när de investerar i Q-linea, i sammanhanget ett litet och okänt företag med oprövade förmågor.



**Figur 7** Q-linea befinner sig i den första fasen i technology adoption lifecycle:





**Figur 8 Scott & Bruce (1987) fem faser som ett företag går igenom.**

	Stage 1. Inception	Stage 2. Survival	Stage 3. Growth	Stage 4. Expansion	Stage 5. Maturity
Stage of industry	Emerging, fragmented	Emerging, fragmented	Growth, some larger competitors, new entries	Growth, shakeout	Growth/shakeout or mature/declining
Key issues	Obtaining customers, economic production	Revenues and expenses	Managed growth, ensuring resources	Financing growth, maintaining control	Expense control, productivity, niche marketing if industry declining
Top management role	Direct supervision	Supervised supervision	Delegation, co-ordination	Decentralization	Decentralization
Management style	Entrepreneurial, individualistic	Entrepreneurial, administrative	Entrepreneurial, co-ordinate	Professional, administrative	Watchdog
Organization structure	Unstructured	Simple	Functional, centralized	Functional, decentralized	Decentralized functional/product
Product and market research	None	Little	Some new product development	New product innovation, market research	Production innovation
Systems and controls	Simple bookkeeping, eyeball control	Simple bookkeeping, personal control	Accounting systems, simple control reports	Budgeting systems, monthly sales and production reports, delegated control	Formal control systems, management by objectives
Major source of finance	Owners, friends and relatives, suppliers leasing	Owners, suppliers, banks	Banks, new partners, retained earnings	Retained earnings, new partners, secured long-term debt	Retained earnings, long-term debt
Cash generation	Negative	Negative/breakeven	Positive but reinvested	Positive with small dividend	Cash generator, higher dividend
Major investments	Plant and equipment	Working capital	Working capital, extended plant	New operating units	Maintenance of plant and market position
Product-market	Single line and limited channels and market	Single line and market but increasing scale and channels	Broadened but limited line, single market, multiple channels	Extended range, increased markets and channels	Contained lines, multiple markets and channels

**Figur 9 Modell för tillväxt hos små företag enligt Scott & Bruce (1987).**



Enligt Scott & Bruce (1987) genomgår ett litet företag fem stadier under sin livstid, övergången mellan varje stadie karakteriseras av en kris. Denna livscykel kan liknas vid en produkts livscykel, där olika stadier kan ta olika lång tid, men den stora skillnaden ligger i att ett företags faser är betydligt längre än en produkts. Även om företaget när som helst kan misslyckas så är det större risk vid någon av kriserna. Med hjälp av figur 9 som kommer från Scott & Bruce (1987) har Q-linea identifierats befinna sig någonstans mellan fas 1 och fas 2 vilket överensstämmer med ”klyftan” i Moores modell för tekniska innovationer (Moore 2006). Fokus ligger på att skaffa kunder och uppbringa ekonomisk produktion.

För att förklara mer utförligt hur långt Q-linea har nått inom varje utvecklingsområde, beskrivs de mer utförligt nedan.

#### **2.4.1 Reagens**

Den grundläggande tekniken kommer ursprungligen från Olink, den är väl utvecklad och fungerar bra. Brister finns i tillämpningen där hastighet och minimal provpreparation är krav. För att uppnå ett tydligare uttryck utför Q-linea två RCA:er med en klippning i mellan. Detta gör att många fler nystan detekteras per detekterad partikel, vilket ökar signalstyrkan. Även tidsoptimeringen har påverkat instrumentet då snabbare reaktioner ofta är en avvägning mot noggrannhet.

#### **2.4.2 Mekanik och elektronik**

Det andra området som utvecklas just nu är mekaniken och elektroniken. Ett amplifikationskit är under utveckling och kommer att minska variansen i amplifieringssteget, eftersom den mänskliga faktorn då kommer att uteslutas. Instrumentet i Thalesprojektet är en del i ett större system. Detta innebär att det som kommer in till instrumentet är ett kokat DNA-prov. Det som levereras ut är en siffra på hur många nystan som har räknats.

#### **2.4.3 Patent**

I dagsläget äger inte Q-linea några patent. Olink har patenten för reaktionerna. Q-linea arbetar dock på att ta fram systempatent. Detta systempatent är ett patent för att skydda instrumentets funktion, snarare än att blockera konkurrenter.

#### **2.4.4 Alternativa instrument**

Under intervjuerna har det framkommit att Point of care (POC, vård nära patienten) är ett önskemål av kund i framtiden (se avsnitt 23, Andra intressanta marknader). En av examensarbetarna undersöker marknadspotentialen för ett POC-instrument vid detektering av mastit (juverinflammation).

## 3 Grundläggande förutsättningar för arbetet

### 3.1 Problematisering

Q-linea vill expandera och diversifiera kundbasen och därför ta sig utanför den militära marknaden. Företaget har förslag på civila marknader där ett intåg skulle kunna vara aktuellt men saknar kunskap om dem och har därför svårt att fatta ett beslut om vilken marknad de bör välja. Q-lineas system bygger på ny teknik och bör ha en mängd användningsområden där PCR och ELISA inte fungerar optimalt. Den nuvarande verksamheten är baserad på två kunder samt ett antal EU-projekt. Båda kunderna befinner sig på den militära marknaden, och när kontraktet med dessa löper ut inom en överskådlig framtid uppstår frågan om var nästa fokus bör ligga.

### 3.2 Syfte

Syftet med projektet är att undersöka om det är sannolikt att Q-linea kan lansera ett instrument med god lönsamhet för den veterinärdiagnostiska marknaden.

### 3.3 Mål

Målet är att Q-linea ska kunna fatta ett välgrundat beslut huruvida den veterinärdiagnostiska marknaden kan ge en godtagbar avkastning på satsat kapital.

### 3.4 Struktur

Här nedan ses en kort strukturell översikt av rapporten.

**Kapitel 2, Bakgrund:** Ger en översikt över Q-linea som företag och den teknik som företaget använder i sitt instrument.

**Kapitel 3, Grundläggande förutsättningar för arbetet:** Innehåller problematisering, syfte, mål och ger en teoretisk grund till arbetet.

**Kapitel 4, Metod:** Går igenom metodiken som använts vid faktainsamling.

**Kapitel 5, Den veterinärdiagnostiska marknaden:** Utgör en studie av den veterinärdiagnostiska marknaden i Sverige med fokus på SVA.

**Kapitel 6, Ekonomiska förutsättningar:** Utvärderar de ekonomiska möjligheterna för försäljning till SVA och andra kunder.

**Kapitel 7, Avvägningar om SVA som kund:** Analyserar förutsättningarna för SVA som första huvudkund för Q-linea i relation till den övriga marknaden, både från SVA:s sida och Q-lineas sida.

**Kapitel 8, Marknadens värde i relation till alla andra marknader:** Analyserar marknadens värde och sätter detta i relation till andra potentiella marknader.

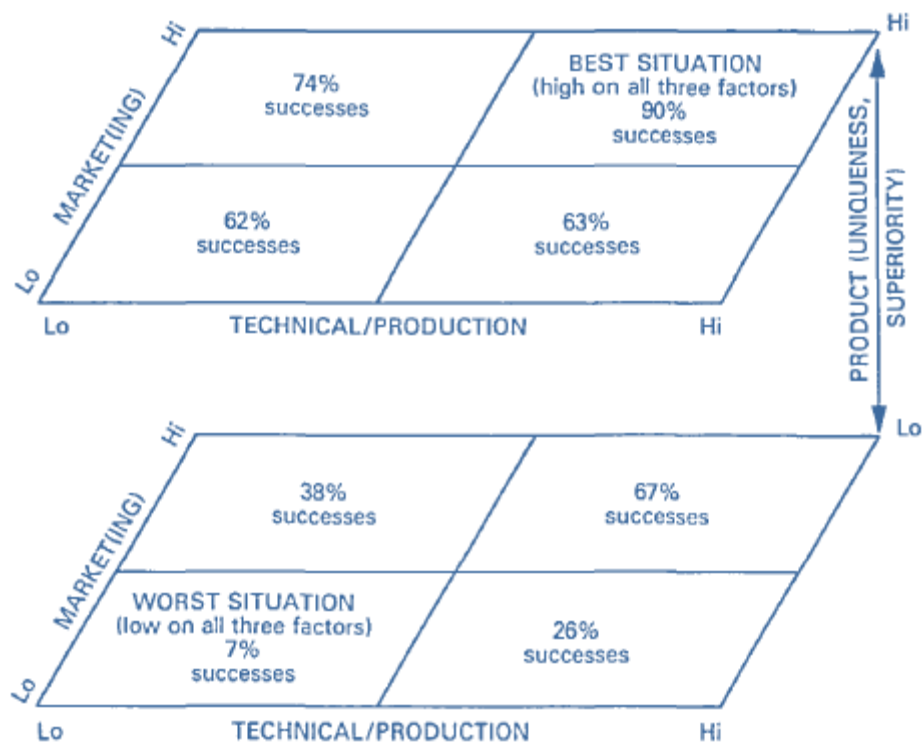
**Kapitel 9, Avslutning:** Tar upp slutsatser och vad Q-linea enligt författarna bör göra härnäst.

### 3.5 Teoretisk grund

Att lansera en ny produkt innebär en ekonomisk risk för företaget eftersom misslyckade produktlanseringar innebär stora utvecklingskostnader som ej kompenseras av försäljningsintäkter. För Q-linea är det därför viktigt att identifiera marknader av tillräcklig storlek där produkten har stor sannolikhet att bli framgångsrik. Forskning på skillnader mellan framgångsrika och misslyckade produkter visar att framgångsfaktorer kan delas in i tre kategorier (Cooper 1979a):

- Kunderna upplever produkten som signifikant bättre än konkurrerande produkter.
- Tillverkaren har undersökt marknaden och förstår kundernas behov.
- Tillverkaren har den tekniska kompetens som krävs.

Utifrån det syfte och mål som ställts upp för projektet kan arbetets uppgift tolkas som att Q-lineas kompetens inom marknadsförståelse ska föras från låg till hög (se figur 10). Detta inkluderar även en bedömning av huruvida Q-lineas produkt uppfyller kraven för att vara en ur kundens perspektiv överlägsen produkt. En jämförande studie av vetenskapliga artiklar visar att följande faktorer kan anses som definierande för produktöverlägsenhet och marknadsförståelse (Cooper 1976, 1979a, 1979b, 1980, Cooper & Kleinschmidt 1987, Maidique & Zirger 1983, Moore 2006, Moreau & Markman 2001, Song & Noh 2006 och Rothwell 1972):



Figur 10 Korrelationen mellan framgång och produktöverlägsenhet, marknadsförståelse och teknisk kompetens (Cooper 1979a).

Produktöverlägsenhet:

- Kunden upplever att produkten ger signifikanta fördelar jämfört med konkurrerande produkter
- Kunden upplever att produktens förmåga väl överstiger priset
- Kunden erhåller unika fördelar av att köpa och använda produkten
- Kundens totala kostnader minskar i förhållande till intäkterna
- Kunden kan se att produkten löser problem som kunden har
- Kunden upplever att produkten är innovativ

Marknadsförståelse:

- Företaget har undersökt flera potentiella marknader
- Företaget har genomfört en preliminär teknisk studie och förstår teknikläget
- Företaget har genomfört detaljerade marknadsundersökningar
- Kundens behov, önskningar och smak är tydligt definierade
- En finansiell analys av marknadens potential har genomförts

## 4 Metod

Arbetet följer en holistisk vetenskapssyn, det vill säga att helhetssynen är större än delarna. Allmänt för teorin i arbetet är att teoridelarna finns i texten där teorierna används eftersom det finns en interaktion mellan empiri och teori som inte går att dela (Wigblad 1996). Genomgående bakas analys in i texten, författarna har även strävat efter att redovisa resultaten först och sedan hur dessa har framkommit.

### 4.1 Inhämtande av information

En marknadskartläggning är aktuell att göra när ett företag ska välja att gå in på en ny geografisk marknad alternativt i ett nytt produktområde (Lekvall & Wahlbin, 2001). Den behandlar total marknadsvolym, fördelning av olika delsegment, beskrivningar av aktörer, attityder hos kunder och konsumenter, deras värderingar, mönster och köpbeteende. Den ingående kundanalysen innehåller dessutom behov, krav, priskänslighet, kärnprodukter och kringtjänster. Dessutom bör en konkurrentanalys genomföras.

Arbetet är beskrivande till sin karaktär och svarar i slutändan på frågan om det är värt för Q-linea att satsa på den veterinärdiagnostiska marknaden. Till största del utgörs arbetet av en kvalitativ fallansats med SVA i centrum. Detta innebär att slutsatserna som dras inte kan generaliseras över hela marknaden, men de ger en god indikation om hur värderingar och behov ser ut (Andersen 1998). Den största delen av informationen har inhämtats genom kvalitativa, djupgående intervjuer med nyckelpersoner på och runt om SVA. Även en kvalitativ survey har skickats ut till ett antal större svenska laboratorier.

En stor mängd sekundär information har inhämtats. Teorin som arbetet bygger på kommer i första hand från vetenskapliga artiklar från olika typer av tidskrifter. Annan information kommer från företags hemsidor, årsredovisningar, statliga rapporter samt produktblad.

## 4.2 Intervjumetodik

Tio kvalitativa intervjuer med sammanlagt 14 nyckelpersoner har utförts på och runt om SVA. Urvalet har gjorts med hjälp av "island to island"-metoden, det vill säga, varje person har fått nämna personer som de i sin tur har tyckt vara relevanta (se tabell 1 för respondenter). Att det blev tio intervjuer beror på att det i de sista intervjuerna upplevdes som att informationen som gavs var redundant, det vill säga det var information som redan inhämtats vid tidigare intervjuer. Då SVA är indelat i ett antal enheter, har de enheter där gruppen har upplevt att Q-lineas metod skulle vara applicerbar, intervjuats. Utanför SVA intervjuades länsveterinären i Uppsala län; han utgjorde den första respondenten med anledning av sin stora kunskap om hela den veterinärmedicinska marknaden. Även personer på UDS, Universitetsdjursjukhuset, intervjuades, för att få perspektivet "en kund till det veterinärdiagnostiska laboratoriet". Universitetsdjursjukhusets eget laboratorium Klinisk kemi intervjuades för att se om också den typen av laboratorier skulle kunna utgöra en potentiell kund.

Djupgående intervjuer har endast skett inom det lokala närområdet. Anledningen till detta är fördelen med att snabbt kunna transportera sig till och från de intervjuade. Vid något tillfälle har en intervju bestämts till samma dag som kontakten tagits. Med oändlig tid och oändliga resurser hade ett mer korrekt resultat kunnat ges. Det hade till exempel varit intressant att intervju veterinärer i Skåne för att se hur de prioriterar när de skickar prover, om de i större utsträckning skickar prover till Tyskland och Danmark. Med den begränsade tiden i beaktande har gruppen sett det som en bättre prioritering att inte röra sig i för stora geografiska områden utan intervju de som finns på plats.

Intervjuerna har en semistrukturerad konstruktion med öppna frågor, på förhand konstruerade i en intervjuguide. Till skillnad från helt strukturerade intervjuer, där till exempel enkäter med förbestämda svarsalternativ finns, kan respondenten i en semistrukturerad intervju förtydliga och utveckla svaren; det är enklare att fördjupa diskussionen och gå in i en dialog. Frågeställningen är bred, vilket öppnar för fördjupningsfrågor, vilka dessa blir är omöjligt att säga på förhand (Saunders *et al* 2003). I de flesta intervjuerna ställdes ett antal frågor innan Q-linea som företag och dess teknik presenterades. Anledningen till detta var att respondenten skulle vara ofärgad av de möjligheter som Q-linea öppnar med sin teknik, vid frågor i kategorin vad kunden skulle vilja ha och klara av om de fick drömma fritt. Frågorna involverade verksamheten, önskemål och framtidsutsikter, men även värderingsfrågor där den intervjuade på en graderad skala fick uppskatta hur viktigt de upplevde att det var med vissa egenskaper hos analysinstrumentering.

Intervjuerna spelades in, efter godkännande från respondenten. Dessa transkriberades sedan till text med utgångspunkt från de på förhand skrivna frågorna som även låg till grund för analys av empirin.

#### 4.2.1 Reflektion intervjumetodik

I efterhand upplever gruppen att djupgående intervjuer borde ha utförts med andra laboratorier som utför veterinärdiagnostik. Detta är en brist i island-to-island-metoden, eftersom personer inom ett stort företag i stor grad bara refererar till personer inom samma företag och inte till konkurrenter. I ett försök att kompensera för detta användes speglingsmetoden, där veterinärer blev tillfrågade vilka laboratorier de använde sig av. Detta skedde dock sent i processen vilket i kombination med svårigheter att få intresse från kommersiella laboratorier ledde till att djupgående intervjuer med dessa inte genomfördes. Även privatpraktiserande veterinärer borde intervjuats för att få en större förståelse för deras perspektiv.

**Tabell 1 Intervjuade befattningar**

Namn	Befattning	Arbetsplats
Louise Treiberg Berndtsson	Sektionschef Enheten för virologi, immunologi och parasitologi	SVA
Mikael Juremalm	Sektionschef Enheten för virologi, immunologi och parasitologi	SVA
Mikael Berg	Professor	SLU
Mikael Leijon	Forskare Enheten för virologi, immunologi och parasitologi	SVA
Neil LeBlanc	Forskare Enheten för virologi, immunologi och parasitologi	SVA
Olov Andersson	Marknads- och informationschef	SVA
Björn Bengtsson	Veterinär, Enheten för djurhälsa och antibiotikafrågor	SVA
Susanna Sternberg Lewerin	Veterinär, Enheten för sjukdomskontroll och smittskydd	SVA
Erik Eriksson	Sektionschef Enheten för bakteriologi	SVA
Susanne Lindqvist	Chefsveterinär Smådjur	UDS
Henrik Ericsson	Länsveterinär	Uppsala länsstyrelse
Ann-Christine Folker	Laboratoriechef, Klinisk kemi	UDS
Annika Thor-Asplund	Biomedicinsk analytiker, Klinisk kemi	UDS
RoseMarie Klausson	Biomedicinsk analytiker, Klinisk kemi	UDS

#### 4.3 Enkätmetodik

För att ta reda på vilka laboratorier som faktiskt anlitas för analys av veterinärmedicinska prover gjordes en undersökning enligt speglingsmetoden (Alfredéen 2001) bland slumpvis utvalda veterinärkliniker i Sverige. Till de sex laboratorier som angavs som tjänsteleverantörer av bakteriologisk och virologisk analys, skickades en enkät ut.

Enkäten genomfördes som en kvantitativ survey-ansats och utformades i Google Docs. De flesta frågorna kunde besvaras med siffror i en Likert-skala med sju svarsalternativ (Sommer & Sommer 1997) men vissa var av kvalitativ karaktär, dessa lades in för att ge en tydligare

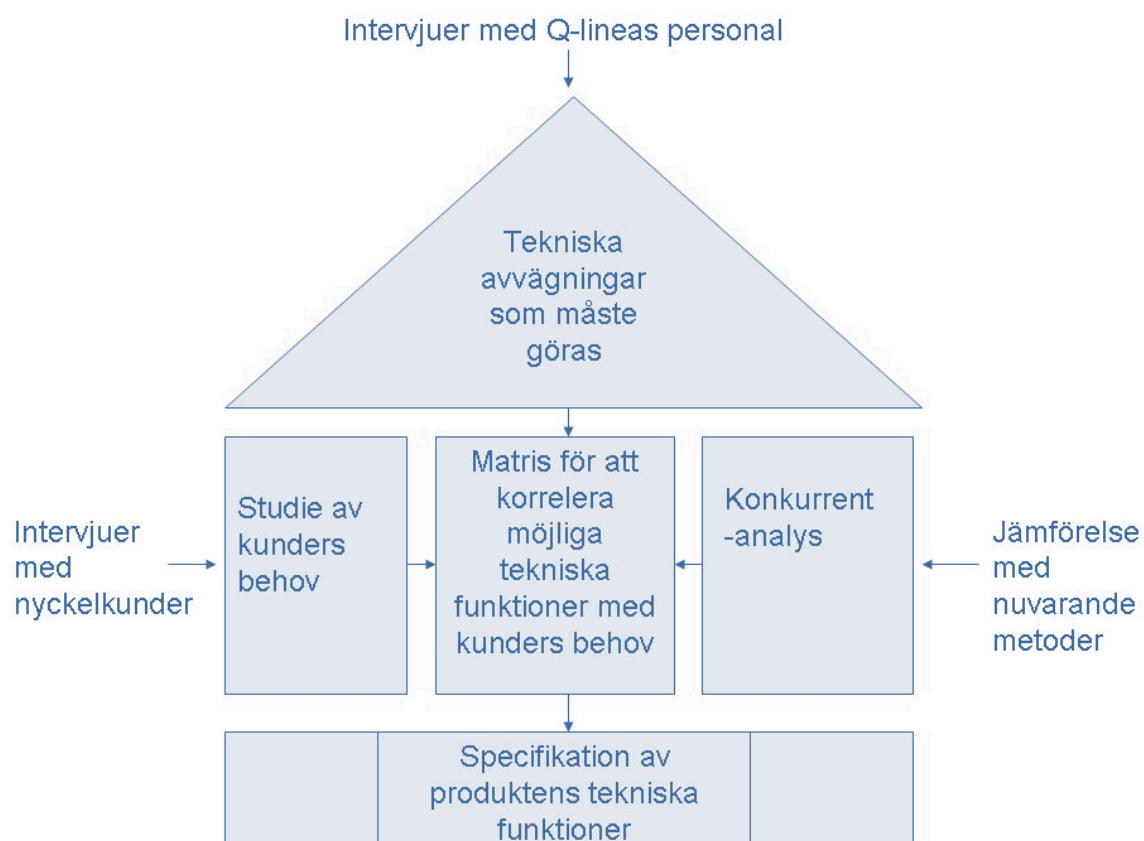
referenspunkt. De första frågorna som ställdes var av mer demografisk/geografisk karaktär, med anledning av att denna typ av frågor är bra att börja med eftersom de är lätta att besvara. En av fördelarna med att använda sig av en enkät är att få en mindre fläckad objektivitet. Respondenten tar inga intryck av intervjuaren utan svarar på frågorna helt på eget bevåg. Däremot kan intressanta svar inte utvecklas och nyanser i svaren lätt missas (Saunders *et al* 2003).

#### 4.3.1 Reflektion enkätmetodik

Svarsfrekvensen på enkäten uppgick till två av sex. Detta ger en låg signifikans och svaren kan inte räknas kvantitativt. Därför används inte enkätsvaren som grund för analys utan snarare som ytterligare information och för att öka gruppens förståelse för marknaden.

#### 4.4 House of quality

House of quality (Hauser 1988, Schilling 2008, Terminko 1994) är en modell som används för att koppla samman kundens behov, tekniska begränsningar i produktutvecklingen och konkurrenters förmåga (se figur 11).



**Figur 11 "The house of quality"- En metod för att sammanställa information från kunder och potentiella tekniska funktioner i syfte att optimera produkten utefter kundens behov.**

Arbetsmodellen har använts som ett internt styrdokument i gruppen för att skapa en gemensam kommunikationsplattform. Målet är att sammanställa tre undersökningar (kundernas behov, tekniska begränsningar och konkurrenternas förmåga) till en enhetlig



översikt över hur den egna produkten kan uppfylla kundens behov. Det färdiga huset har sedan under arbetets gång delats upp och kombinerats med andra modeller för att leverera en slutrapport. Kundens behov har studerats via fallstudier på SVA i kombination med en kvantitativ enkätstudie till andra laboratorier spridda över landet.

De data som infogats i house of quality ger en bild över hur de tekniska avvägningarna avpassas för att i så stor utsträckning som möjligt göra Q-lineas instrument till ett mer attraktivt alternativ än konkurrerande instrument. Genom att konfigurera instrumentet på ett sådant sätt att kundernas viktigaste behov utgör "Points of Difference" (PODs) samtidigt som övriga områden upplevs som åtminstone likvärdiga "Points of Parity" (POPs) (Keller 2002), kan Q-linea bygga upp ett försäljningscase där produktens upplevda värdefördel optimeras gentemot konkurrenterna (Cooper 2004, Peters 2004).

House of Quality har inte slutförts i den utsträckningen att en detaljerad produktspecifikation (golvet i house of quality, se figur 10) har gjorts utifrån de matematiska möjligheter som modellen erbjuder. Resultaten från taket och väggarna diskuteras i stort och områden som är extra viktiga framkommer tydligt. Att göra ett detaljerat golv är ett möjligt fokus för vidare studier.

#### 4.5 Business case

För att göra en uppskattning om en investering är värd att göra behövs en överblick och sammanfattning av siffrorna, vilket är anledningen till att ett business case mot SVA upprättats. Initialt identifierades vilka ekonomiska fördelar som projektet skulle innebära för SVA. Därefter identifieras de investeringar som behövde göras i projektet. Utifrån detta beräknades hur lång tid det krävs innan investeringen har betalat igen sig samt hur god avkastning det är på de investerade kronorna.

Business caset innehåller stora brister då tillfrågade på SVA har varit ovilliga att lämna ut uppgifter om ekonomi i form av kostnadsuppskattning och fördelning av provsorter (singel, multiplex etc) och deras baspris. Dessutom har Q-linea haft svårt att ange exakta siffror och tidsåtgång. Som exempel kan nämnas frågan om hur mycket ett reagenskit skulle kosta att utveckla och sälja; resultatspannet har varierat mellan en relativt stor vinst och en stor förlust. Orsaken till detta är osäkerheten om vilken typ av instrument som ska utvecklas och det i sin tur är svårt att säga då de grundläggande siffrorna inte kan beräknas. I business caset nämns effektiviseringen för SVA som procentsats för att skapa något att resonera kring.

#### 4.6 Konkurrentanalys & marknadspositionering

Det finns ett avstånd mellan en produkts faktiska egenskaper och de egenskaper som konsumenten uppfattar (Keller & Tybout 2002, Uggla 2006). För att upprätthålla en vetenskaplig trovärdighet är det viktigt för Q-linea att positionera sin produkt i konsumentens medvetande utifrån de tekniska egenskaper som produkten besitter. För att optimera instrumentets positionering har därför likställande ("points of parity") och differentierade ("points of difference") budskap valts utifrån kunders upplevda behov och en analys av vilka behov som Q-linea är bäst på att tillfredsställa.



## 5 Den veterinärdiagnostiska marknaden

### 5.1 Den veterinärdiagnostiska marknaden – en översikt

Den svenska veterinärmedicinska marknaden har under de senaste åren genomgått en förändring. Antalet nötkreatur och svin minskar i antal, trots att besättningsstorlekarna ökar. Däremot ökar antalet fjäderfä och får. Antalet sällskapsdjur, främst häst, hund och katt, ökar. 2004 fanns det ca 280 000 hästar i Sverige och över 400 000 mjölkkor. 2009 hade siffran för mjölkkor sjunkit till ca 350 000, hur många hästar det fanns 2009 har inte räknats men det antas att siffran har stigit ytterligare (Jordbruksverket [www](http://www.jordbruksverket.se)). Det gör att den statliga aktören på den veterinärmedicinska marknaden, Distriktsveterinärerna, som tidigare nästan uteslutande fokuserat på lantbruksdjur, mer och mer har gått över till att även behandla sällskapsdjur. Sveriges hushålls inköp av veterinärtjänster 2004 uppgick till 1,2 miljarder kronor, det är en tredubbling sedan 1993 (Veterinär fältverksamhet i nya former 2005).

Enligt en utredning som gjordes 2005 om ändringar i lagstiftningen gällande veterinärmarknaden (Veterinär fältverksamhet i nya former, 2005) finns det drygt 1000 veterinärmedicinska företag i Sverige, med ”veterinärmedicinskt” menas att det finns minst en anställd med veterinär kompetens. Den totala omsättningen utgör cirka 2,5 miljarder svenska kronor (se tabell 2). Av dessa är större delen privat ägda och överlag är det mycket små företag:

- Endast ett företag har över 200 anställda: Distriktsveterinärerna.
- 26 företag har fler än 20 men färre än 200 anställda.
- Sex aktiebolag har fler än 50 anställda

Statens jordbruksverk (SJV), som tillhandahåller Distriktsveterinärerna, besitter i dagsläget dubbla roller. Dels är de en klinisk veterinärverksamhet med ca 380 anställda veterinärer, dels utgör de en tillsynsmyndighet över den samlade veterinära yrkesverksamheten.

Distriktsveterinärerna är alltså ett vinstdrivande företag med stationär och ambulerande verksamhet men verkar under Jordbruksverket. För den verksamhet som är myndighetsutövande erhåller Distriktsveterinärerna ca 94 miljoner kronor per år i anslag.

Djursjukvården kan delas in i tre primära kategorier: lantbruksdjur, häst och sällskapsdjur. De veterinära inrättningarna kan delas in i fyra kategorier i fallande ordning, med största inrättning först: djursjukhus, djurkliniker, veterinärstationer och mindre mottagningar (Veterinär fältverksamhet i nya former 2007). Det finns ett 20-tal djursjukhus i landet och fyra regiondjursjukhus: Göteborg, Helsingborg, Stockholm (Bagarmossen) och Strömsholm, varav ett (Strömsholm) även är regionhästsjukhus. De största djursjukhusen är:

1. Distriktsveterinärerna (ca 380 anställda)
2. ATG Hästklinikerna AB (ca 110 anställda)
3. Regiondjursjukhuset Strömsholm AB (ca 100 anställda)

4. Blå Stjärnans Djursjukhus AB (ca 80 anställda)
5. Regiondjursjukhuset i Bagarmossen AB (ca 70 anställda)

**Tabell 2 Antal och omsättning av och hos olika typer av veterinärföretag**

Ägandeform	Antal i Sverige	Total omsättning (MKr)
Aktiebolag	250	1700
Enskild firma	750	225
Statlig (Distriktsveterinärerna)	1	400

Den veterinärmedicinska marknaden innefattar en mängd olika instanser och organisationer som alla har en viktig roll i att systemet fungerar för djurägarna och för samhället i stort. De viktigaste utgörs av:

- Svenska Jordbruksverket som bland mycket annat beviljar alternativt avslår veterinärlegitimationer. Distriktsveterinärerna är en enhet inom Jordbruksverket och är rikstäckande och tillgängliga dygnet runt. Jordbruksverket har även ett centralt ansvar för landets smittskydd
- Landets länsstyrelser ansvarar för tillsyn av all veterinärverksamhet. De är ansvariga för att utföra provtagningar vid misstankar om epizootier
- SVA utgör Sveriges expert- och uppdragsmyndighet vad gäller veterinärdiagnostik. De övervakar och utgör beredskapsmyndighet samt ansvarar för avancerade analyser och diagnostisering

För fler viktiga veterinärmedicinska instanser se bilaga 2.

Den förebyggande vården utförs företrädesvis riktat mot lantbruksdjuren. Den utförs ofta inom statsfinansierade program för nöt, fjäderfä och gris. Svensk mjölk, Svensk fågel och Svenska djurhälsovården är branschorganisationer som till stor del bedriver dessa kontrollprogram.

Den veterinära fältverksamheten riktas till stor del mot lantbruksdjur men även mot häst. Det är ofta besättningsveterinären som kommer i kontakt med lantbruksdjuren, det vill säga den veterinär som tillgodoser besättningen med löpande veterinärtjänster.

Alla djursjukhus (läs alla veterinära företag som bedriver provtagning) har någon form av laborieverksamhet, även om den inte är avancerad på de minsta klinikerna. Det gör att det är ytterst svårt att uppskatta hur många veterinärmedicinska laboratorier som finns i Sverige. Gemensamt är att de flesta djursjukhus skickar iväg sina mest avancerade prover för analys; många till SVA (Statens veterinärmedicinska anstalt) men även till andra laboratorier. Vid en rundringning till ett slumpmässigt urval av olika djursjukhus och veterinärmottagningar (totalt svar från elva stycken med god geografisk täckning över landet) identifierades ett antal olika laboratorier, varav SVA var mest anlitat (se tabell 3).

**Tabell 3 Vanligast anlitade labben, andel av antal tillfrågade djursjukhus och veterinärmottagningar**

Laboratorium	Använt
SVA	100%
Biovet	45%
SLU	45%
Mikrobiologen	36%
Canilab	18%
Eurofins	18%
IDEXX	18%

## 5.2 Hypotes: SVA som ledande användare

Examensarbetet syftar till att hitta en civil marknad för Q-linea. Den marknad som initialt framstod som mest lovande var den veterinärdiagnostiska marknaden. Inom den veterinärdiagnostiska marknaden identifierades en stor och viktig aktör i form av SVA. SVA bedömdes som en potentiell ledande användare med följande motiveringar:

- De flesta aktörer inom den veterinärmedicinska marknaden i Sverige använder sig av SVA vid analys av prover (se tabell 3).
- SVA är ålagda av regeringen att stödja utvecklandet av nya analysmetoder (Regleringsbrev SVA 2010).
- SVA utför ca 580 000 biomolekylsanalyser per år (Årsredovisning SVA 2009).
- SVA är Europaledande inom flera diagnostiska områden, med virusdiagnostik som sin specialitet

Utifrån de olika marknader som undersöktes så hade SVA en av de största mängderna prover och de har i uppdrag att ligga i framkant i utvecklingen (Förordning med instruktion för Statens veterinärmedicinska anstalt 2009). SVA har dessutom för Q-linea ett mycket gynnsamt geografiskt läge i södra Uppsala.

Sammantaget kan detta ge Q-linea goda möjligheter att i nära samarbete med en krävande kund (Alfredéen 2001, von Hippel 1997) utveckla instrumentet och skapa ett första inträde som ger goda möjligheter att ta sig ut på den stora marknaden (Moore 2006). Den veterinärdiagnostiska marknaden skulle även kunna utnyttjas som ett försteg till inträde på den humanmedicinska marknaden. Den veterinärdiagnostiska marknaden omges av mindre krav för godkännande och erfarenheter inom veterinärdiagnostik kan användas för att understödja en ansökan om godkännande för humandiagnostik.

## 5.3 SVA

SVA står för Statens veterinärmedicinska anstalt och är en myndighet under Jordbruksdepartementet. Dess uppgift är att vara ett veterinärmedicinskt expert- och serviceorgan åt myndigheter och privatpersoner i Sverige. SVA ska bland annat utreda smittsamma djursjukdomars uppkomst och utbredning samt utrotning och stå för ett veterinärmedicinskt laboratorium. Anstalten grundades 1911 men hette då Statens veterinärbiologiska anstalt, 1943 byttes namnet ut till dagens (SVA [www:a](http://www.sva.se), Nordisk

familjebok [www](http://www.sva.se)). SVA är Sveriges största veterinärmedicinska laboratorium och genomför cirka 630 000 analyser per år fördelat på bakteriologiska, virologiska, parasitära, kemiska och foderprover (se tabell 4). (Årsredovisning SVA 2009)

**Tabell 4 Fördelning av provsvar på SVA**

Provsort	Antal
Virologiska prover	308 000
Bakteriologiska prover	200 000
Parasitprover	72 000
Kemiska prover	29 000
Foder prover	17 000
Summa	630 000

SVA är europeiskt referenslaboratorium för *Campylobacter* vilket innebär att de tillhandahåller information för de nationella referenslaboratorierna runt om i Europa, utvärderar och utvecklar analysmetoder samt samarbetar och kommunicerar med offentliga laboratorier. Anstalten är dessutom nationellt referenslaboratorium för ett 30-tal andra analyser och utgör Sveriges enda veterinärmedicinska laboratorium som analyserar virus (SVA [www](http://www.sva.se):b).

Verksamheten kan delas upp i två delar. Dels är SVA en uppdragsmyndighet med kunskapsförmedling och beredskap som huvuduppgifter, dels bedrivs kommersiell verksamhet i form av diagnostik- och vaccinförsäljning med i huvudsak veterinärer som målkunder. Dessa fördelas på fyra huvudprocesser: sjukdomsövervakning och bevakning, kunskapsförmedling, diagnostik och analysarbete samt forskning och utveckling. Varje process har en processägare (förutom diagnostik och analysarbete som har två) som styr dess verksamhet.

Organisationen består av sju enheter. Dessa är:

- enheten för bakteriologi,
- enheten för djurhälsa och antibiotikafrågor,
- enheten för kemi, miljö och fodersäkerhet,
- enheten för patologi och viltsjukdomar,
- enheten för sjukdomskontroll och smittskydd,
- enheten för vacciner och laboratorieprodukter
- enheten för virologi, immunbiologi och parasitologi.

Enheterna delas i sin tur upp i sektioner, vilka ser lite olika ut för varje enhet beroende på behov. Enheter och sektioner har en enhetschef och en sektionschef respektive. Enhetscheferna ingår, tillsammans med en planeringschef, en marknads- och informationschef och en sekreterare, i SVA:s ledning. (SVA [www](http://www.sva.se):c)

Chef för SVA är generaldirektör Anders Ekvall. Generaldirektören tillsätts av regeringen. Det finns ingen styrelse som i ett bolag, däremot finns det ett insynsråd som ska vara till stöd för generaldirektören. Det har även som uppgift att förstärka den demokratiska insynen och

medborgarnas möjligheter till inflytande. Insynsrådet består av personer från näringslivet som på olika sätt är kopplade till den veterinärdiagnostiska marknaden, som exempel kan nämnas representanter från Lantbrukarnas riksförbund (LRF), Kött och charkföretagen (KCF), Smittskyddsinstitutet och Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) (SVA [www:d](http://www.sva.se)).

### 5.3.1 SVA:s uppdrag från Jordbruksverket

SVA styrs av Regleringsbrev för budgetåret 2010 avseende Statens veterinärmedicinska Anstalt (Jordbruksdepartementet 2009) och Förordning med instruktion för Statens veterinärmedicinska anstalt (SFS 2009:1394) som utgår från beslut som regeringen fattar.

#### 5.3.1.1 Regleringsbrevet

Regleringsbrevet innehåller beskrivning av verksamheten inom sju områden. Viktigt att notera är att detta brev inte tar upp uppdragsverksamheten mer än hur den inverkar på myndighetsverksamheten. Detta trots att uppdragsverksamheten är betydligt större än myndighetsuppdraget räknat på omsättning i kr.

- **Bruka utan att förbruka** – Uppdraget syftar till att hållbar utveckling skall iakttas.
- **Generell återrapportering** – Det som skall rapporteras är hur uppdragsverksamheten påverkar myndighetsuppdragen.
- **Bedömning av djurhälsoläget i Sverige** – En allmän bedömning både från domesticerade och vilda djur.
- **Prognoser** – Rör ekonomiska prognoser både relativt mot föregående prognos och relativt mot nästa prognostillfälle. Det är 5 prognostillfällen spridda under året.
- **Uppdrag → Vilda djur** – Driva en grupp i samarbete med Naturvårdsverket för övervakning av sjukdomstillståndet hos vilda djur. Rörande sjukdomar under epizootilagen (SFS 1999:657) skall samarbete med Jordbruksverket ske.
- **Uppdrag → Strama VL** – Driva en grupp som heter Strategigruppen för rationell antibiotikaanvändning och minskad antibiotikaresistens inom området veterinärmedicin och livsmedel (Strama-VL). Gruppen skall arbeta med samordning av initiativ för att bevara effektiv antibiotikaanvändning med inriktning mot djurhälsa och livsmedel.
- **Klimatförändringar** – SVA ska tillsammans med Smittskyddsinstitutet och Socialstyrelsen övervaka och reagera mot förändringar av sjukdomsläget till följd av klimatförändringar.

#### 5.3.1.2 Instruktion för SVA

I denna text beskrivs SVA:s uppdrag och hur anställningsförfaranden skall gå till. Bland deras uppgifter nämns:

- Utredda djursjukdomars uppkomst och spridning samt förebygga och bekämpa dessa.
- Utföra diagnostik på anmälningsskyldiga sjukdomar.
- Jobba som nationellt referenslaboratorium.
- Utföra diagnostik på foder.
- Bedriva forskning och utvecklingsarbete.
- Övervaka antibiotikaresistensläget och verka för rationell antibiotikaanvändning.

- I första hand utföra uppdrag för Jordbruksverket men även med förtur göra uppdrag åt andra myndigheter.
- Arbeta i linje med Sveriges politik för global utveckling.

### 5.3.2 Påverkan på Q-lineas samverkan med SVA

SVA:s huvuduppgifter är att stötta Jordbruksverket, bevaka sjukdomsläget hos djur samt att diagnostisera särskilt allvarliga patogener. Uppdragsverksamheten där diagnos av mindre allvarliga patogener genomförs har främst till uppgift att finansiera analyslaboratoriet och säkerställa att personalen är tränad att hantera allvarliga sjukdomsutbrott. Detta innebär att SVA kan erhålla finansiering av nya instrument på icke marknadsmässiga grunder i syfte att öka katastrofberedskapen.

### 5.4 Ackrediteringskrav inom veterinärdiagnostik

Regleringar av den veterinärdiagnostiska marknaden kan delas in i certifieringar och ackrediteringar. Certifieringarna är mera allmänna, som exempel kan nämnas SS-EN ISO 9001:2008 som är en av de mest använda modellerna för verksamhetsutveckling (SIS www:a) och SS-EN ISO 14001:2004, som syftar till att kontinuerligt minska verksamhetens totala miljöbelastning (SIS www:b). Båda dessa uppfyller SVA. Ackrediteringar är mer specifika och eftersom Sverige är ett OECD-land så innefattas alla Sveriges laboratorier av deras bestämmelser vad gäller krav och riktlinjer. OECD har bestämt att GLP (Good laboratory practice, eller God laboratoriesed) ska tillämpas på samtliga ickekliniska hälso- och miljösäkerhetsförsök. Detta innefattar förutom personalens kompetens, lokalernas utformning och använda kemikalier, även apparater, material och reagenser. SVA uppfyller även OECD:s gällande GDP- och GMP-riktlinjer för vissa av sina tjänster. OECD står för Organisation for Economic Co-operation and Development och riktlinjerna innebär:

**GLP:** GLP står för God Laboratoriesed och är ett kvalitetssystem för den organisatoriska processen när icke-kliniska säkerhetsstudier planeras, utförs, övervakas, registreras, arkiveras och rapporteras. Det utförs på produkter som humana och veterinära läkemedel, bekämpningsmedel, kosmetiska produkter och industrikemikalier. Läkemedelsverket är GLP-tillsynsmyndighet för läkemedel, kosmetika och hygieniska produkter och SWEDAC för kemikalier. (Läkemedelsverket www:a)

**GDP:** GDP behandlar partihandel för läkemedel. Här har Läkemedelsverket ett antal föreskrifter som ska vara uppfyllda. Föreskrifterna omfattar läkemedel, naturläkemedel och homeopatiska preparat. (Läkemedelsverket www:b)

**GMP:** GMP är EU-riktlinjer för hur kvalitetskontrollen på tillverkning av läkemedel ska gå till. Hela kedjan kontrolleras, det vill säga att tester utförs på råvaror, slutprodukter och produktions lokaler. (Läkemedelsverket www:c)

SVA har även samarbeten med SWEDAC och DNV, vilka beskrivs närmare längre ned. SVA har valt att ackreditera sig för cirka 100 undersökningar enligt SS-EN ISO/IEC 17025:2005 (allmänna kompetenskrav för provnings- och kalibreringslaboratorier). Standarden är en europeisk kvalitetsstandard för analyslaboratorier (SVA www:e).

#### 5.4.1 DNV:s (Det Norske Veritas) verksamhet

SVA:s kvalitetssystem granskas regelbundet av både DNV och SWEDAC. DNV är en stor organisation med ca 9000 anställda, 300 kontor i 100 länder och är en global leverantör av tjänster för att hantera risk. Verksamheten bedrivs i form av en stiftelse och har som grundvärdering att vara oberoende. De utför, till skillnad från SWEDAC, inte några ackrediteringar men har som mål att skydda liv, egendom och miljö och har stora forskningssatsningar (DNV [www](http://www.dnv.com)).

#### 5.4.2 SWEDAC:s verksamhet

SWEDAC är ett nationellt organ som ackrediterar, certifierar och kontrollerar laboratorier. De är även rådgivande till andra myndigheter och jobbar internationellt i samarbeten för att standarder skall tolkas lika mellan länder och för att lära ut hur de arbetar. (SWEDAC [www:a](http://www.swedac.se)).

SWEDAC ackrediterar inom många olika områden, så som kärnkraft, livsmedel och brottsutredningar (SWEDAC [www:b](http://www.swedac.se)). De är dessutom samordnande myndighet för marknadskontroll. Marknadskontrollen utförs av 17 olika myndigheter inom sitt respektive område. SWEDAC har ansvar för att väga och mäta delar av marknadskontrollen (SWEDAC [www:c](http://www.swedac.se)). En ackreditering av SWEDAC leder till ackreditering i alla länder som de samarbetar med (SWEDAC [www:d](http://www.swedac.se)).

Praxis inom veterinärdiagnostik är att endast ackreditera sig för ett fåtal av de analyser som genomförs. Detta eftersom analyserna följer standardiserade protokoll som endast skiljer sig med avseende på de reagens som används. Därför räcker en eller ett fåtal ackrediteringar som kvalitetsstämpel på laboratoriets tillförlitlighet (SVA [www:e](http://www.sva.se)).

### 5.5 Spegling – laboratorier använda av veterinärkliniker

18 veterinärkliniker kontaktades i syfte att identifiera laboratorier som genomför bakteriologisk och virologisk analys. Elva av dessa svarade. Av dem använde sig alla av SVA, vilket inte är uppseendeväckande då alla prover med misstanke om anmälningspliktig smitta skickas dit.

Med två undantag rapporterade alla klinikerna att de har använt sig av fler än ett laboratorium. I de två fall där bara ett har använts, var det SVA som anlits. En klinik har använt sig av hela sju olika laboratorier. I tabell 5 ses de laboratorier som har anlits, samt antalet kliniker som har använt sig av dem och andelen som använt sig av dem. Enligt undersökningen var, förutom SVA, BioVet, SLU och Mikrobiologen mest anlidade. En klinik har angett att de använt sig av intern analys, vilket mer eller mindre alla veterinärmedicinska kliniker gör på någon nivå.

Av dessa laboratorier kontaktades de laboratorier som utför bakteriologisk och/eller serologisk analys. Dessa utgörs av LäckabyLab, Eurofins Steins, Eurofins Pegasus, IDEXX, Djursjukhuset Karlstad samt Mikrobiologen. Information om laboratorierna finns i bilaga 3.



**Tabell 5 Anlitade laboratorier samt antalet och andelen kliniker som anlitar dem**

Laboratorium	Antal	%
SVA	11	100%
Mikrobiologen	4	36%
CaniLab-EquiLab	2	18%
Rest association	1	9%
Camebridge	1	9%
BioVet	5	45%
Eurofins (Steins & Pegasus)	2	18%
SLU	5	45%
IDEXX	2	18%
Läckeby	1	9%
Karlstads smådjursjukhus	1	9%
Karlstad sjukhus	1	9%
Dr Baddaky	1	9%
Intern analys	1	9%

## 5.6 Marknaden för veterinärdiagnostik

### 5.6.1 Den nuvarande marknaden

Marknaden för veterinärdiagnostiska instrument kan i nuläget delas in i två segment; DNA-baserad diagnostik som domineras av qPCR-maskiner och antikroppsbaserad diagnostik som domineras av ELISA-tester. Eftersom Q-lineas instrument klarar av båda typerna av diagnostik skulle företaget kraftigt förändra marknadsdynamiken om instrumentet fick ett stort genomslag. De flesta företag har en så liten mängd prover att ett instrument från Q-linea, som har hög genomflödeskapacitet, skulle kunna ersätta deras utrustning både för qPCR och ELISA-analys.

En jämförande studie mellan framgångsrika och misslyckade produktlanseringar (Cooper 1979a) har visat att följande marknadsfaktorer har mycket stor signifikans vid ett misslyckande:

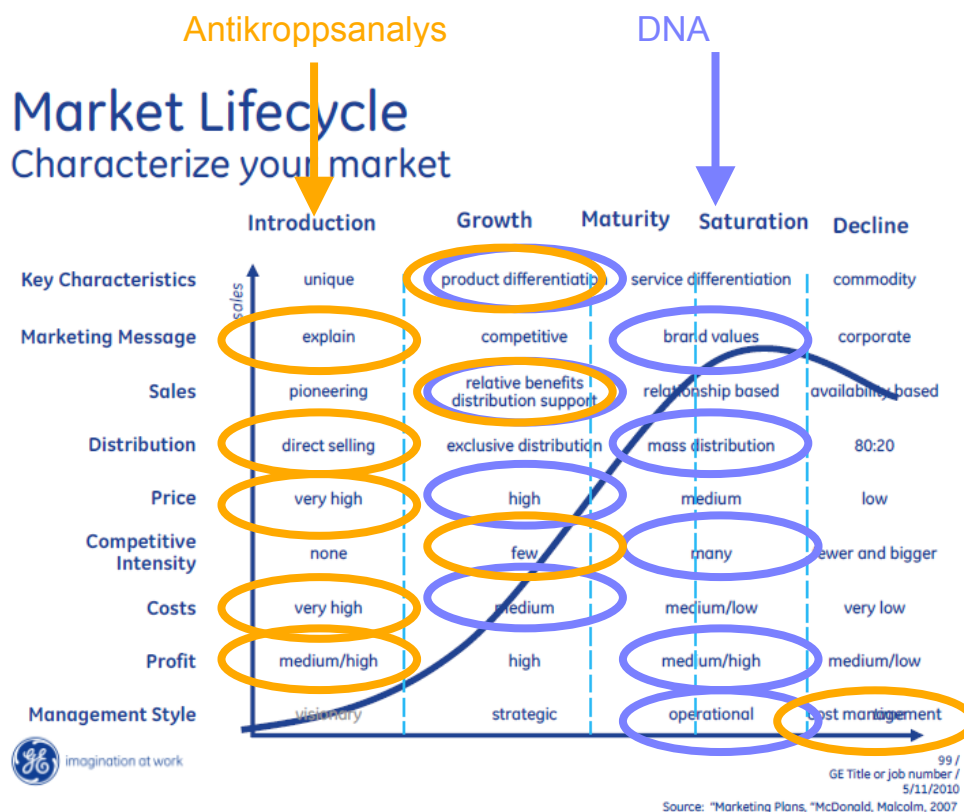
- Produkten är dyrare än konkurrenterna men innebär inga ekonomiska fördelar för kunden.
- Marknaden är dynamisk och nya produkter introduceras ofta.
- Det är hård konkurrens på marknaden och kunderna är redan nöjda med nuvarande alternativ.



Intervjuer med potentiella kunder visar på att kundnöjdheten är mycket hög både med avseende på automatiserad ELISA och med qPCR även om forskare med erfarenhet av båda metoderna anser att kvaliteten på qPCR genomgående är högre än hos ELISA-diagnostik.

Marknadsstrukturen inom de två nuvarande marknaderna skiljer sig kraftigt åt (se figur 12). Konkurrens inom DNA-baserad diagnostik finns i form av en stor mängd qPCR-tillverkare och en mindre mängd tillverkare av helautomatiserade system med provpreparation (tabell 10, konkurrenter inom DNA baserad diagnostik). Standardinstrument för PCR-analys från större tillverkare är i allmänhet utformade som ett värmeblock och ett system för detektion med fluorescens. Dessa kan sedan laddas och programmeras för att hantera vilket kommersiellt PCR-kit som helst och klarar batcher på 96 eller 384 prover. Flera tillverkare har sedan försökt utveckla PCR-analys med funktioner som centrifugering (AlphaHelix, Qiagen), isoterm amplifikation (Optigene) eller fältmässighet (Smiths detection). Dessa förbättringar innebär även en inläsningseffekt då varje produkt säljs med kit optimerade för instrumentet vilket ger en eftermarknad med monopolsituation liknande den för skrivarpatroner. Där binds kunder upp till skrivartillverkaren genom att skrivarna endast är anpassade för tillverkarens egna patroner (Miao 2010) (se avsnitt 6.2, Finansieringsalternativ).

ELISA är en teknik som från början är utvecklad som en laborationsmetod där alla moment från preparation till avläsning sker manuellt (Engvall & Perlman 1971, Van Weemen & Schuurs 1971). Automatisering har sedan skett då metoden spridit sig från forskningslaboratorier till diagnostiska laboratorier med ett behov att genomföra ett stort antal diagnoser per dag. Resultatet är att instrumenten är mindre kopplade till specifika analyskit än instrument för qPCR. I stället är instrumenten byggda för att efterlikna hur en människa genomför det manuella arbetet vid en ELISA-analys och därigenom finns det möjlighet att använda i princip alla kommersiellt tillgängliga ELISA-kit. Att programmera automatiserade protokoll för de instrument som används av laboratoriet kräver även det en hel del arbete. Dessutom kräver automatiserad ELISA i allmänhet ett större överskott på reagens än manuell ELISA och är i allmänhet långsammare än en långsam analytiker. Därför genomför man på SVA ett stort antal ELISA analyser manuellt eftersom det är mest tids- och kostnadseffektiv. Ett stort antal tester genomförs även på de halvautomatiserade ELISA-instrumenten Zenyx scientific och Zinsser Analytic.



Figur 12 Marknadens mognad inom antikropps- och DNA-analys (Wallmark pers, MacDonald 2007)

### 5.6.2 Sannolika reaktioner från konkurrenter

Den veterinärdiagnostiska marknaden är i förhållande till andra marknader mycket liten. Den svenska marknaden är dessutom synnerligen perifer med en total marknadspotential på något tiotal instrument (se avsnitt 8.2, Marknadsvärdering). Detta innebär att majoriteten av tillverkarna troligtvis inte kommer att agera på något särskilt sätt när Q-linea går in på marknaden. Ett viktigt undantag här är Luminex Corporation (Teknisk fördjupning Tomas Klingström ej publicerad) som har ett avtal med forskare på SVA om utveckling av en multiplex reagenskit för diagnostik av sjukdomar hos kycklingar. Att Q-linea får liknande utvecklingsprojekt är nödvändigt för att finansiera utvecklingen av diagnoskit för de sjukdomar som SVA analyserar (se avsnitt 6.2, Finansieringsalternativ). Detta innebär att det är sannolikt att Q-linea tidigt kommer att ses som en potentiell konkurrent av Luminex.

Situationen kompliceras ytterligare av att Luminex Corporations instrument, precis som Q-lineas, är multikompetenta och kan detektera både DNA och antikroppar. Detta i kombination med att deras instrument fyller hela prisspannet (instrument för 35 000 USD, 75 000 USD och 150 000 USD) innebär att Q-linea tidigt riskerar att hamna i en konkurrenssituation där Luminex Corporation agerar på Q-lineas verksamhet.

### 5.6.3 Porters femkraftsmodell

Porters fem kraftsmodell kan användas för att utvärdera hur intressant en marknad är (Schilling 2008). Den veterinärdiagnostiska marknaden har i rapporten tidigare diskuterats nedan ges en sammanfattning av veterinärdiagnostiska marknaden.

**Barriärer för nya konkurrenter:** Den veterinärmedicinska marknaden har en relativt stor tröskel då företag som vill ta sig in på marknaden måste utveckla ett instrument. I Q-lineas fall är det ca 10-20 miljoner för att anpassa sitt instrument. Detta kan uppfattas som lågt och beror på att Q-linea redan har tekniken och ett instrument utvecklat även om det är för en annan marknad. Alla ledande märken på marknaden använder sig av olika patent men mångfalden av molekylärdiagnostiska metoder gör det svårt att använda patent som skydd. Det främsta skyddet utgörs istället av kunders ovilja att byta system. Vilket beror på att systemskiftet kräver att företagen som byter måste nyutbilda sin personal, byta protokoll och eventuellt behövs även ackreditering för den nya metoden.

**Konkurrensen på marknaden:** Om Q-linea skulle gå in på marknaden skulle troligen inte andra veterinärmedicinska företag reagera då det redan finns många aktörer med innovativa instrument på marknaden (se bilaga 4). Men om Q-linea skulle börja ta marknadsandelar är det sannolikt att de stora aktörerna antingen försöker köpa upp Q-linea eller sätta stopp för Q-linea. Phadias hantering av konkurrenter där en köptes och en annan utmanades på vetenskapliga studier är goda exempel på båda reaktionerna (Matsson pers). Marknaden består i dagsläget av ett stort antal qPCR och ELISA tillverkare samt några enstaka företag som använder andra metoder.

**Möjlighet för kunden att byta mellan olika aktörer:** Det är som tidigare nämnts svårt för en kund att byta mellan olika system. För kunder är det främst radikala kundfördelar som ekonomiskt kan rättfärdiga plattformbyten. SVA bytte instrument för qPCR då Applied Biosystems tog fram en sådan reagenskatalog att alla olika amplifikationer genomfördes med samma temperatur. Detta innebär att flera patogener kunde testas för på samma platta och därigenom köras samtidigt i qPCR-maskinen.

**Kunders förmåga att förhandla och sätta tryck på leverantörerna:** Det är svårt att avgöra relationen mellan kunder och sälja på marknaden. Det finns ett stort antal leverantörer men på en teknisk nivå finns det stora skillnader mellan instrumentet. Dessutom innebär kundens ovilja att byta system att leverantören i etablerade kundrelationer har en stark ställning. Ett fenomen som har noterats på marknaden under rapporten är att informationen som presenteras på tillverkares hemsidor är mycket bristfällig. Vad den bristfälliga informationen beror på är svår att säga men en teori kan vara att det inte är internet som är den traditionella kanalen för informationsinhämtning vid inköp av avancerade veterinärdiagnostiska instrument.

**Leverantörers tryck på tillverkarna:** Det finns två sorters leverantörer till instrumentföretag som Q-linea. Antingen köper Q-linea delar till instrumentet och sammanfogar själva instrumentet. Ett annat alternativ är att köpa produktionskapaciteten från en legotillverkare som sköter produktionen. I uppbyggnadsfasen av maskinen har inte leverantörerna speciellt mycket muskler och det är lätt för instrumentföretag som Q-linea att byta mellan olika. När

produkten färdigställts påverkas maktförhållandena eftersom legotillverkaren bygger upp en produktionskompeten. Om Q-linea tillverkar instrumentet själva minskas denna påverkan men det finns en risk för att man i vissa kritiska delar av instrumentet endast har en eller ett fåtal leverantörer att köpa delar av.

## 6 Ekonomiska förutsättningar

### 6.1 Business Case, SVA

En tänkbar situation är den att SVA sparar så mycket kapital per år på ett teknikskifte till Q-linea att de inom några år kan räkna hem utvecklingskostnaderna och av den anledningen finansierar utvecklingen av ett instrument för den veterinärdiagnostiska marknaden. I business caset nedan redovisas hur den ekonomiska bärkraften ser ut för SVA för att utveckla ett instrument i samarbete med Q-linea, helt utan statliga eller andra bidrag.

Tabellen nedan innehåller antagandet att eftersom qPCR är en teknik som är så väletablerad och få har visat ett intresse av att byta ut den, så är det svårt att slå sig in på den marknaden initialt. Detta innebär att business caset endast undersöker hur vinsten för SVA skulle se ut om ELISA-analyserna ersattes med Q-lineas teknik. En uppskattning av kostnaden för SVA:s ELISA-prover är ca 45 miljoner kronor. Siffran är framräknad ur SVA:s årsredovisning för bakteriologiska och virologiska analyser. Av de 600 000 analyserna som genomförs varje år utgör ELISA analyser för antikroppssvar cirka hälften. Kostnaden för den totala diagnostiska analysdelen på SVA är 158 miljoner. ELISA-analyser kostar i medeltal cirka 3/5 av medelkostnaden på analyser på SVA:s prislista. Detta genererar en omsättnings siffra på  $158 * (1/2) * (3/5) \approx 45$  miljoner för ELISA-analyserna. Kostnaden per prov varierar stort beroende på om det är ett singelprov eller om det ingår i en omgång med ett stort antal prover som ska testas för samma sjukdomar.

Effektiviseringen av arbetet kan uppskattas till cirka 30 % vad det gäller arbetstid och förbrukningsmateriel baserat på analys av tidsstudierna. Den insparning som kan uppnås kommer troligen inte att överstiga 50 %, eftersom en stor del av arbetstiden är uppackning och dokumentation. Eller understiga 15 % i insparning då det i dagsläget är tidskrävande preparations steg och manuellt arbete under analyserna. Detta är ett brett intervall men 30 % är ett medelvärde som ger en fingervisning och ger en siffra att relatera till i relation till den vinsten som är möjlig. En viktig sak som bör beaktas är mängdrabatt. En uppskattning av detta har gjorts till ca 140 kr vilket är baserat på en halvering av arbetstiden och är rimlig om man jämför med kostnadsuppsygnadens möjlighet till nedskärning av arbetstid.

**Tabell 6 Intjäningsmöjligheter för SVA**

	Omsättning per år (SEK)	Kostnad/prov (SEK)	Antal prover	Påverkbar % av totalkostnad	Effektivise ringsgrad	Intjäning per år (SEK)
ELISA	28 000 000	140	200 000	22 %	30 %	1 866 587
ELISA	15 000 000	280	53 571	39 %	30 %	1 750 000
					Summa	3 616 587

Kostnadsuppbyggnaden för provet redovisas i tabellen nedan. Siffrorna baseras på ungefärliga uppgifter som erhållits under intervjuer med relevant personal på SVA.

**Tabell 7 Uppbyggnad av provkostnad för få respektive många prover**

Få prov (SEK)	Procent	Många prov (SEK)	Procent	Sort
93	60%	16	20%	Personalkostnader
16	10%	16	20%	Förbrukningsmateriel
47	30%	47	60%	Avskrivningar
156	100%	78	100%	Analyskostnad
109	70%	54	70%	Overhead-kostnad
16	10%	8	10%	FOU påslag
280	180%	140	180%	Totalkostnad

En kraftig men överraskande marknadsbarriär för Q-linea är att avskrivningar och overheadkostnader utgör en så stor andel av kostnaderna för ett prov. Att byta instrument skulle därför endast kunna påverka 40 % av analyskostnaden och 22 % av totalkostnaden för många prov. Detta innebär att SVA:s lönsamhet för att implementera Q-lineas instrument är mycket mindre än förstudien antydde. Att utveckla instrument innebär stora kostnader, cirka 20 miljoner kronor krävs för att utveckla ett nytt instrument för den veterinärdiagnostiska marknaden. Utöver detta behöver alla de olika reagenserna tas fram. En ungefärlig kostnad för reagens ligger i storleksordningen 6 miljoner, detta förutsätter att en bra struktur byggts upp för framtagningen. I tabellen nedan (tabell 8) framställs vad SVA tjänar (förlorar) med Q-lineas teknik och de initiala kostnader som SVA skulle behöva lägga ut om de ensamt finansierade utvecklingen. Investeringen skulle återbetala sig på tio år och IRR (interest return rate) är -3 % eftersom beräknad livslängd är 9 år. Detta är långt ifrån bra siffror för SVA då det är en garanterad förlustaffär. Däremot skulle IRR ligga på 69 % om de endast betalade den planerade inköpskostnaden för ett instrument (500 000 kr). Om de dessutom kan söka särskilja anslag med hänvisning till sitt myndighetsuppdrag skulle Q-lineas instrument kunna bli ett mycket lönsamt alternativ.

**Tabell 8 Investering över tid**

(tkr)									
År	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Besparing	362	1 808	2 532	3 617	3 617	3 617	3 617	3 617	3 617
Procent adopterat	10,00%	50,00%	70,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%
Utveckling	-26000	0	0	0	0	0	0	0	0
Implementering	-3000	-1000	0		0	0	0	0	0
Total kostnad	-29000	-1000	0	0	0	0	0	0	0
Differens	-28 638	808	2 532	3 617	3 617	3 617	3 617	3 617	3 617
	-28 638	-27 830	-25 298	-21 682	-18 065	-14 449	-10 832	-7 216	-3 599
IRR	-3%								
Återbetalningstid	10år								

## 6.2 Finansieringsalternativ

Det finns ett antal olika alternativa finansieringsformer för Q-lineas instrument. Eftersom instrumentet inte är utvecklat för en veterinärdiagnostisk marknad än måste utvecklingen finansieras. Det råder även ovisshet om hur instrumentet effektivast och framgångsrikast drar in pengar när det väl är färdigt.

### 6.2.1 Betalningslösningar för kunder

#### 6.2.1.1 Stor upfrontkostnad

Det bästa alternativet för Q-linea med SVA som kund är att sälja sitt instrument med större upfrontkostnad och med billigare reagens. Det har framkommit i intervjuer att SVA i första hand finansierar sina investeringar med äskade pengar medan förbrukningsmateriel är något som avdelningarna får stå för själva. Rutindiagnostiken på SVA vill hålla nere kostnaderna i så hög grad som möjligt. Alltså står inte SVA för investeringen i instrumentet, utan det kan vara pengar som härrör från t ex MSB (Myndigheten för samhällsbeskydd och beredskap). Att välja denna finansieringsform innebär för Q-lineas del att en stor summa pengar kommer in i företaget i ett tidigt skede.

#### 6.2.1.2 Högre reagenskostnad och prenumerationer

Ett annat alternativ är att instrumentet säljs billigare och att reagensen säljs dyrare. Detta skulle innebära en kontinuerlig ström av pengar in i företaget under en längre period. Ett tydligt exempel på en bransch där detta har fallit väl ut är branschen för skrivare. Kunden köper bläckpatroner för 60-70 % mer än vad det kostar att tillverka patronen (Miao 2010), kunderna lägger alltså mer pengar på förbrukningsmateriel än på själva skrivaren i sig.

Ett annat närliggande alternativ är prenumerationer. Ett exempel på denna finansieringsform är virusprogram, med företag som Norton Antivirus och MacAfee VirusScan i ledning. De säljer sin initiala produkt billigt och sedan betalar kunden för en prenumeration på uppdateringar. En "ren" prenumeration på reagens skulle inte fungera för Q-linea eftersom

kunden i fråga skulle kunna beställa en mycket större mängd reagens än vad Q-linea beräknat och således tar betalt för. Men en prenumeration kunde möjliggöras på så sätt att en uppdatering av prover hela tiden skulle göras och att detta garanterades kunderna. Detta är önskvärt eftersom virus och bakterier muterar och genomet hela tiden förändras. Kunden skulle mot en kostnad kunna erhålla ”uppdaterade” prover i reagensen i stället för de erbjudna ursprungsproberna.

#### **6.2.1.3 Leasing**

Att leasa ut instrumentet och ta betalt för reagens är ett annat alternativ. Detta skulle eventuellt passa kommersiella laboratorier bättre då de inte kan ansöka om pengar på samma sätt som en statlig aktör som SVA kan göra, och hela tiden måste hålla nere sina kostnader. Leasing skulle även vara attraktivt i ett kommersiellt laboratoriums ögon då analysmarknaden snabbt förändras och en anpassning till förändring är ett krav för överlevnad. Klinisk kemi på UDS (Universitetsdjursjukhuset) är exempel på ett laboratorium som leasar ett av sina instrument. När företaget som leasar ut sin utrustning kommer med ett nyare och bättre instrument så byts det helt enkelt ut.

#### **6.2.1.4 Reagens**

Med laboratorier som har en god uppfattning om ungefär hur många provsvar de levererar per år med samma reagens, skulle en beställning kunna läggas i början av året på ett visst antal reagens och betalningen kan sedan delas upp till exempelvis till varje kvartal. Vet Q-linea att betalningen kommer in så ökar säkerheten även om pengarna inte finns i kassan direkt. Med SVA kan detta dock bli svårt eftersom de utgör en beredskapsmyndighet och har svårt att uppskatta vid årets början hur många provsvar de kommer att leverera följande år. När Blue tongue bröt ut 2008 ökade antalet prover lavinartat, det fanns indikationer om smittan redan 2007 men det var, och är, ytterst svårt att förutsäga ett sjukdomsutbrott, när det väl kom måste myndigheten handla snabbt. En tredubbling av provsvaren är inte konstigt. En respons på detta problem skulle kunna vara uppbyggnad av ett beredskapslager.

#### **6.2.1.5 Utveckling av reagenskit**

Något som av SVA setts som attraktivt är utvecklingen av reagenskit. Det vill säga ett kit av reagens som medger multiplex, och på så sätt ger svar på ett antal frågor samtidigt. Ett exempel är luftvägspaket till häst som testar fem olika virus. Får Q-linea utvecklingskapital någon annanstans ifrån för instrumentet, skulle SVA kunna stå för utvecklingskostnaden för särskilt behövda reagenskit.

### **6.2.2 Varifrån kan Q-linea få finansiering för utvecklingen av sitt instrument**

I ett samarbete med SVA kan finansieringen komma från ett antal olika intressenter. I samarbete med SVA:s forskaravdelningar skulle det med största sannolikhet handla om EU-projektpengar. Problemet med det är att EU på förhand har bestämt ett antal projekt som ska få pengar, så utvecklingen och forskningen som ska göras måste anpassas till detta. Detta kan innebära att resultatet av projektet inte alls stämmer överens med de egna intressena. Q-linea är ett så kallat SME (small medium enterprise). EU-projekt kräver ofta deltagande av SME:er



i forskningskonsortier vilket gör Q-linea till en attraktiv samarbetspartner för universitet och andra forskningsintensiva företag.

Ett annat alternativ är att SVA som samarbetspartner söker pengar från en annan myndighet. I beredskapssyfte skulle en sådan kunna utgöras av MSB (myndigheten för samhällsskydd och beredskap). Hotet från zoonoser (sjukdomar som har både människor och djur som värd och alltså kan smitta mellan arter) och epizootier (epidemier på djur) är stort och en begränsning i eventuell utbredning är attraktivt, vilket i sin tur kräver snabb detektion.

Det finns ett antal olika stiftelser och myndigheter som delar ut medel till typen av samarbeten som SVA och Q-linea skulle utgöra.

- FORMAS är Forskningsrådet för miljö, areella näringar och samhällsbyggande och har dessa tre kategorier som ansvarsområden.
- SLF, Stiftelsen lantbruksforskning, ger medel till lantbruksforskning som stöder en hållbar utveckling av det svenska lantbruket.
- VINNOVA är Sveriges innovationsmyndighet och har som uppgift att öka konkurrenskraften hos forskare och företag i Sverige.

### **6.2.3 Utvecklingskostnader för ett instrument anpassat till veterinärdiagnostik**

Det är i nuläget oklart hur mycket det skulle kosta för Q-linea att utveckla ett instrument för veterinärmarknaden. Siffror som har diskuterats rör sig mellan 10 och 20 miljoner. Därtill måste utvecklingskostnaderna för reagens iaktas. Vid intervjuer med forskare på SVA har det framkommit att det inte är aktuellt att ta in ett instrument som inte kan hantera alla sjukdomar. Om Q-linea ensamt utvecklar kit för alla patogener skulle det innebära en stor investeringskostnad för företaget.

Diskussionen som förs i rapporten är i huvudsak koncentrerad på finansiering som kan sökas med hjälp av ett intåg på den veterinärdiagnostiska marknaden. Således diskuteras inte riskkapital eller annan extern finansiering eftersom det inte är specifikt för den veterinärdiagnostiska marknaden.

### **6.2.4 Vad skulle Q-linea kunna göra med 20 miljoner?**

Q-linea kostnader uppgår i dagsläget till ca 9 miljoner kronor per år och att utveckla instrumentet för klinisk diagnostik skulle ta cirka två år. I jämförelse med det instrument som i dagsläget utvecklas måste provhanteringen förbättras, amplifikationstiden optimeras för en kortare analysid samt en preparationsenhet byggas.

Till detta kommer kostnader för utvecklingen av reagenskit. Utvecklingen av ett reagenskit motsvarar ungefär en halvtid i två månader och materielkostnader på cirka 2 500 kr. Totalt innebär detta en kostnad på cirka 200 000 kr per reagenskit. För att bli konkurrenskraftig inom veterinärdiagnostik skulle åtminstone 30 olika kit behöva utvecklas vilket innebär en total kostnad på cirka 6 miljoner kronor. SVA söker kontinuerligt SME (small-medium enterprises) för EU-finansiering av projekt och även andra EU-projekt finns att söka för förbättringar av djurskyddet. Detta skulle innebära att Q-linea om 2 år skulle kunna ha ett



instrument redo för veterinärdiagnostikmarknaden men att företaget fortfarande skulle ha begränsade resurser att marknadsföra instrumentet för.

Som nämns i rapporten finns ett ökande intresse för att flytta diagnostiken närmare vården. Detta skulle innebära en radikal förbättring för användarna. Men även en stor omarbetning av instrumentet eftersom användarvänligheten behöver ökas, storleken minskas och kostnaden skall flyttas från tillverkning till utveckling då många fler instrument skulle efterfrågas men med krav på lägre inköpskostnader. Detta skulle kunna finansieras med lönsamhet från första generationens-instrument med mer traditionella egenskaper.

## **7 Avvägningar om SVA som kund**

### **7.1 SVA som ledande användare**

#### **7.1.1 SVA som referenskund**

SVA är ett nationellt referenslaboratorium och har därmed hög trovärdighet. Ett samarbete med SVA för framtagning av instrumentet skulle ge hög trovärdighet gentemot andra stora laboratorier både i Sverige och internationellt. Samarbeten med SVA kan alltså vara värda att satsa på även om inte SVA som kund kommer att generera någon större vinst. Instrumentet som skulle utvecklas mot och med SVA skulle dessutom kunna säljas till andra kunder. Detta gör att det inte är helt självklart att SVA ser ett samarbete som ett bra alternativ då de rör sig på en konkurrensutsatt marknad med kravet på finansiell bärkraft. Med andra ord så kan SVA vara rädda att förlora prover till andra laboratorier om Q-lineas instrument finns även där, vilket minskar SVA:s vinst.

Som ett exempel på SVA:s medvetenhet om konkurrensen från stora europeiska laboratorier kan nämnas att SVA i dagsläget åker ner till den danska veterinärutbildningen där många svenska veterinärer utbildas, i syfte att marknadsföra SVA så att SVA inte skall tappa de svenska marknadsandelarna. I Danmark används stora internationella laboratorier och när de svenska veterinärerna sedan kommer hem till Sverige så skickar de inte sina prover till SVA utan till de stora internationella laboratorierna som de har fått lära sig.

I Q-lineas fall skulle detta eventuellt kunna kringgås genom att ge SVA ett exklusivt Sverige-avtal, där de är den enda aktören på den svenska marknaden som får använda Q-lineas instrument. Det skulle öka värdet på instrumentet för SVA, men den svenska marknaden skulle å andra sidan bli otillfredsställande liten för Q-linea och en satsning utomlands skulle bli nödvändig.

#### **7.1.2 Ledande användare och samarbetspartners**

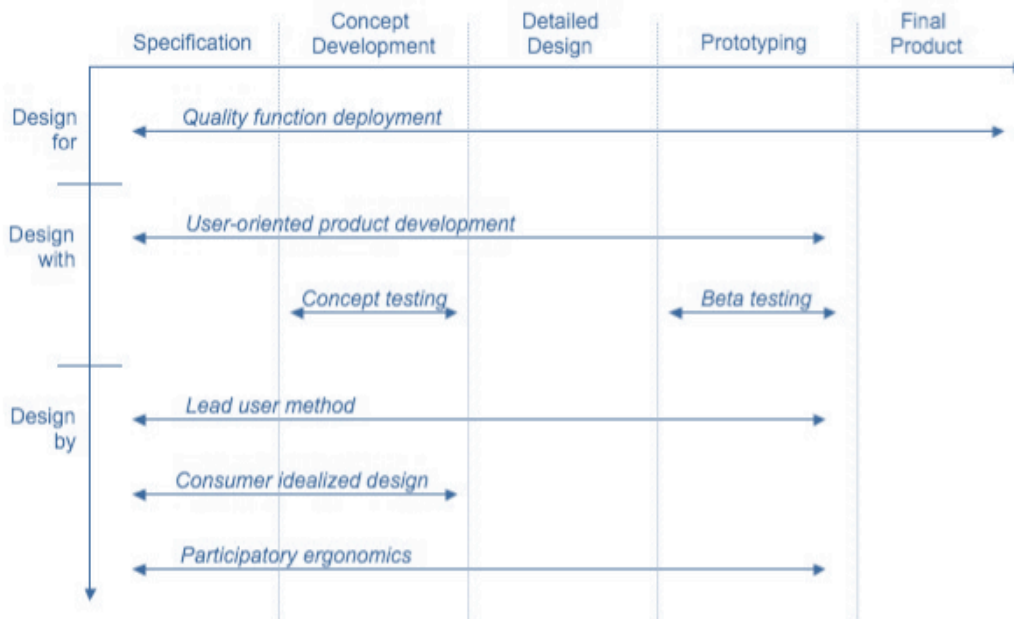
I Q-lineas fall är det relevant att diskutera olika typer av kundinvolverad produktutveckling. Att utveckla den här typen av instrument utan att undersöka behoven hos en intresserad kund skulle lätt leda till att instrumentet saknar betydande egenskaper eller innehåller egenskaper som inte alls är nödvändiga för kunden.

Kaulio (1998) räknar upp ett antal olika typer av kundinvolverad produktutveckling. Dessa består i

- Quality function deployment, vilket innebär ett system som ser till att kundens behov faktiskt styr produktutvecklingen. Kunden involveras bara i den tidiga fasen, utvecklaren tolkar data från kunden, det blir alltså ingen dialog mellan kund och utvecklare.
- User-oriented product development, en analys av användarens krav med startpunkt i användningssituationen, vilket utmynnar i en formulering av kundbehov. Dessa omvandlas sedan till mätbara tekniska krav, och till slut till en prototyp som testas av användaren och modifieras av utvecklaren.
- Concept testing vill involvera kunden i konceptutvecklingsfasen. Användning av stimuli som skisser, modeller och prototyper rekommenderas. Concept testing följs gärna upp av en beta testing.
- Beta testing utförs i de senare faserna i produktutvecklingen och används för att kontrollera att produkten kan utföra vad den är designad för att utföra. Resultatet är ofta en förfining av produkten samt eliminering av buggar.
- Consumer idealized design fokuserar på att involvera kunder tidigt i processen och behandlar till största del konceptutveckling och behovsformulering, ofta i form av gruppövningar.
- Lead user method, fokuserar på kunder med behov som i framtiden kommer att bli behov hos alla kunder på marknaden. Den ledande användaren är en kund som dessutom har en sådan position så att den signifikant tjänar på en lösning på sina behov.
- Participatory ergonomics används till största del inom industriell ergonomi och arkitektur, de anställda/kunderna får själva vara med och utveckla miljön som de ska befinna sig i.

Kaulio ställer de olika metoderna mot varandra i ett diagram, där den ena axeln beskriver i vilken fas i designprocessen deltagandet sker i. Den andra axeln beskriver vilken typ av kundinvolvering det är frågan om.

Q-linea använder sig för närvarande av metoden ledande användare i sitt samarbete med Thales. Det vill säga att strategin är medverkande och medbestämmande och spänner över större delen av produktutvecklingen. Det innebär i sin tur att det inte finns någon skarp gräns mellan utvecklare och kund. Kunden har en aktiv roll och engagerar sig i processen med att utveckla lösningar på sina egna problem. Fördelen med metoden ledande användare är att utvecklaren på ett tidigt och grundligt plan förstår kundens behov av potentiella nya produkter. Urban & Von Hippel (1988) påstår att kunskap om kundens behov som utgår från en ledande användare, och lösningar på dessa behov, förbättrar produktutvecklingen på marknader som förändras snabbt. En typisk sådan marknad är bioteknikmarknaden vilket talar för ett fortsatt fokus på ledande användare för Q-linea på andra marknader än försvarsmarknaden.



**Figur 13** Kaulios beskrivning av kundinvolverad produktutveckling. Horisontellt beskrivs de olika faserna i produktutveckling. På den vertikala axeln beskrivs kundens medverkan. I diagrammet är de olika typerna av samarbeten införda.

Det finns två kännetecken för en ledande användare:

- Det är en kund vars behov kommer att bli generella på en marknad – men som har behoven månader eller år före den stora massan.
- Ledande användare ska tjäna på att få en lösning på behoven de har.

I fallet med Thales så uppfyller de dessa kriterier. Enligt gängse syn på marknaden är fransmännen längst fram i utvecklingen och har därmed behov som den stora massan inom några år kommer att få. Dessutom kommer de att tjäna bra Q-lineas teknik.

Skulle SVA kunna vara en ledande användare för Q-linea? SVA är ett av mycket få stora veterinärmedicinska laboratorier i Sverige. De är intresserade av ett lågt pris per prov, batchbehandling av proverna och hantering av ett stort antal prov per dag. Dessa behov är inte jämförbara med mindre laboratorier (t ex på medelstora djursjukhus), som har mindre provvolym och skillnaden mellan 10 kr eller 20 kr för förbrukningsmateriel inte gör så mycket i det stora hela då det görs så få analyser och kunden betalar vad det kostar. Eftersom små laboratorier analyserar få prover utspritt under dagen vill de ha ”random access” till sina instrument, det vill säga att de ska kunna analysera provet när som helst till skillnad mot batchning då prover sätts ihop i större grupper och körs på en gång. Det finns alltså många mindre aktörer på marknaden som inte har samma behov som SVA när det kommer till hur proverna behandlas.

Men SVA har den ekonomiska kapacitet som krävs för att utveckla och köpa in ett nytt instrument, med hjälp av olika typer av bidrag, samt implementera det i verksamheten på sina laboratorier. Den stora massan på marknaden kan sedan göra investeringen när instrumentet

är färdigutvecklat och fördelarna tydligt syns. Även om inte de mindre laboratorierna kör batcher så bör även de vara intresserade av multiplex och integrerad provpreparation.

Utan stora förändringar i instrumentets utformning skulle SVA förvisso tjäna på att ta in instrumentet men inte så mycket att det på kort sikt skulle täcka implementeringskostnader; utbildning och systemomställningar, och eventuella utvecklingskostnader (se avsnitt 6.1, Business case). Eventuellt skulle en viss effektivisering kunna åstadkommas i den faktiska analysen med mindre handpåläggning från personalen och i form av så kallad multiplexing. Detta skulle innebära något färre anställda. Här måste dock tas med i beräkningen att SVA är en beredskapsmyndighet och på kort tid kan få in en stor mängd prover, varför det är svårt att säga precis hur många anställda som kan avvaras.

SVA själva ser inget större behov av Q-lineas instrument men har gett tydliga indikationer om att förmågan att utföra multiplex är attraktiv; ett forskarteam på virologens forskning och utvecklingsavdelning undersöker för tillfället möjligheten till multiplex med Luminex Corporations teknik för detektion med mikrosfärer. Även en automatisering och inkorporering av provpreparationen är önskvärd. Något som har identifierats som mycket attraktivt är om alla SVA:s analysystem skulle kunna bytas ut mot en enda teknik som är lika bra och något bättre på vissa punkter, samt inte kostar mer än dagens PCR. För tillfället använder sig SVA av över 80 olika ELISA-analyser. Detta är dock något som inte har uttalats högt av SVA:s rutindiagnostiska personal, förmodligen eftersom det anses osannolikt att åstadkomma. Enligt Q-linea är en total omställning av alla SVA:s metoder till deras teknik mycket svårt att uppnå. Det kräver en stor mängd av reagens med utformning av hänglåsprober till ett otroligt brett spektra av organismer och ämnen, något som Q-linea inte har kapacitet till i dagsläget.

Att identifiera SVA som ledande användare är med dessa invändningar i beaktande realistiskt optimistiskt. Sedan tidigare finns det ett samarbete mellan Q-lineas moderbolag Olink och SVA:s virologiska utvecklingsavdelning. I ett samarbete kombineras parternas individuella kompetens och resursbegränsningar kan överbryggas samtidigt som en större säkerhet uppnås då risken delas (Hill & Hellriegel 1994, von Hippel & Katz 2004). Självklart måste båda parter tjäna på samarbetet. I samtal med personer från forskning och utveckling på SVA:s virologiska enhet, flaggades det för intresse av ett sådant samarbete. Tekniken är känd genom Olink och SVA:s forskarteam gör ofta sina projekt i samarbete med så kallade SME:s (small medium enterprise) för att uppfylla krav för EU-finansiering. Att söka EU-finansiering är heller ingenting som är främmande för Q-linea då mycket av deras nuvarande finansiering bygger på medverkande i EU-projekt. Tillsammans med en forskningsavdelning är det i utvecklingsfasen enklare att hitta gemensamma behov och förtjänster då attityden snarare utgörs av upptäckaranda och nyfikenhet och en önskan om att hitta nya bättre metoder än de som redan existerar, till skillnad från en vinstdrivande rutinavdelning som har just ren vinst och effektivitet som sin största drivkraft. Viktigt för att ett sådant samarbete ska utmynna i framgång är att parterna har liknande mål och värderingar, samt att de ska ha olika kompetensområden som antingen är helt skilda eller överlappar till en del, men de bör vara komplementära (Hill & Hellriegel 1994). Enligt Alfredéen (2001) är det positivt att ha en första kund som samarbetspartner då det blir lättare att sprida sin affär till samma bransch på andra geografiska platser, företrädesvis utanför landets gränser. Om Q-linea väljer att gå in på

den veterinärdiagnostiska marknaden i något skede så är detta viktigt att ta i beaktande då Sverigemarknaden inte är stor nog för Q-linea att i längden överleva på.

## 7.2 House of Quality

Intervjuer med kunder utgör House of Quality's vänstra vägg. Här viktas kundens behov och kopplas samman med de tekniska begränsningarna, vilket utgörs av taket till huset. Detta ställs sedan mot den högra väggen som utgörs av hur väl konkurrenterna kan uppfylla kundens behov. Målet är att koppla samman allt detta och i slutändan få en produktspecifikation. På SVA där instrument köps in via särskilda anslag och äskningar är priskänsligheten låg, förutsatt att investeringen görs i syfte att öka krisberedskapsförmågan. Det bör tas i beaktande att andra aktörer saknar denna handlingsfrihet och har generellt även ett mindre antal prover att hantera vilket innebär att de har andra behov. SVA:s behov kan därför inte sägas vara generella. House of Quality i sin helhet återfinns i bilaga 6.

### 7.2.1 Kundbehov SVA (House of Quality's vänstra vägg)

Ett antal olika behov listades i den vänstra väggen. Dessa utgjordes av egenskaper som arbetstid per provsvar, detektion av en liten mängd bakterier, förmåga att ge kvantitativa provsvar, krav på litet underhåll och förmåga att klara av svåra provmaterial. I intervjuer fick sedan berörda personer på SVA vikta hur viktiga dessa förmågor var för dem, på en skala från 1 till 7.

De viktigaste egenskaperna identifierades som:

- Total analysid
- Förmåga att klara av ett stort antal prov per dag
- Få falska positiva utslag
- Förmåga att köra flera prov samtidigt
- Förmåga att testa både protein och DNA

De egenskaper som identifierades till att vara minst viktiga var:

- Mobilt instrument
- Lågt pris per provsvar
- Lågt pris vid inköp
- Låga underhållskostnader

### 7.2.2 Tekniska begränsningar i Q-lineas instrument

De tekniska begränsningarna har till syfte att för utvecklingsgruppen visa vilka tekniska avvägningar som i nuläget måste göras i arbetet. Den här typen av samband ger information om vilka delar av produktdesignen som det bör läggas särskilt stor vikt vid. Informationen ger även en överblick över sekundära samband; en minskning av amplifikationstiden skulle försämra instrumentets känslighet. Utvecklingsgruppen måste då fråga sig om följdverkningarna bör kompenseras genom att minska precisionskraven eller inte. Taket belyser även vilka förändringar som ger andra positiva följdverkningar.

I de tekniska avvägningarna viktades de olika egenskaperna mot varandra, för att se vilken typ av påverkan de hade på varandra och om denna var stor eller liten. Till exempel så har en hög multiplexförmåga (vilket är vad som eftersträvas) en negativ inverkan på kalibreringsbehovet (vilket bör vara så lågt som möjligt) så att kalibreringsbehovet blir högre. Egenskaper som har stor negativ inverkan på varandra är:

- Volym – preparationsförmåga
- Vikt – preparationsförmåga
- Känslighet – precision
- Känslighet – amplifikationstid
- Preparationsförmåga – pris
- Multiplexförmåga – kalibreringsbehov
- Multiplexförmåga – pris lasrar
- Multiplexförmåga – pris kamera

Att ha en inbyggd provpreparation bidrar med andra ord till att både volymen och vikten ökar avsevärt och innebär att det bli dyrare att utveckla och producera instrumentet, vilket i slutändan gör instrumentet dyrare för kund. Förmågan till multiplex, som av potentiella användare har setts som mycket attraktiv, medför att kalibreringsbehovet ökar samt att instrumentet blir dyrare, eftersom fler lasrar och en mer avancerad kamera behövs.

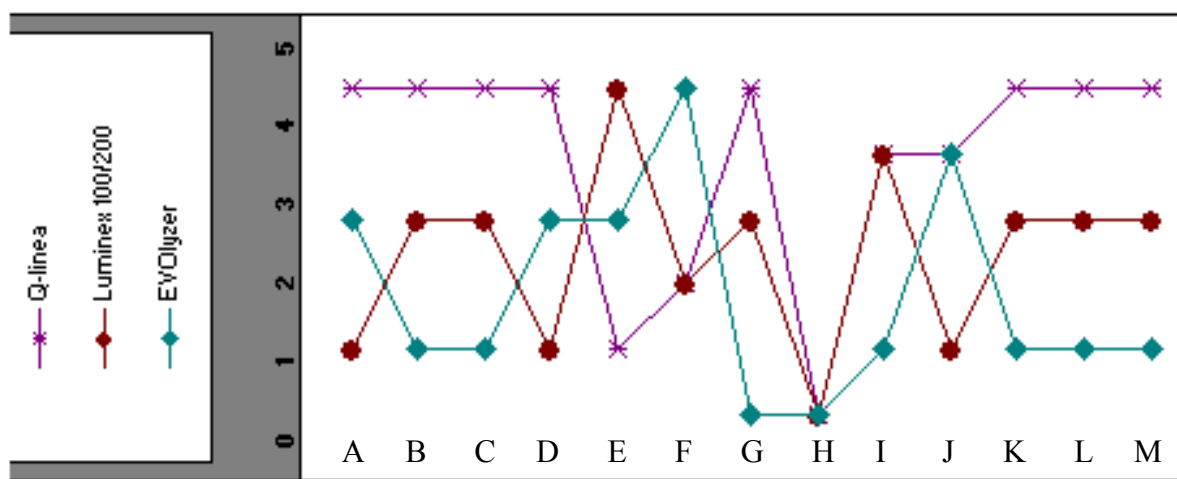
Det finns även egenskaper som påverkar varandra i en positiv riktning. Till exempel kan nämnas att en hög multiplexförmåga bidrar till att fler provsvar per dag kan ges. Egenskaper som har stor positiv inverkan på varandra är:

- Preparationsförmåga – provsvar per dag
- Multiplexförmåga – provsvar per dag
- Preparationsförmåga – förmåga att ladda flera prover
- Multiplexförmåga – pris per provsvar
- Provsvar per dag – förmåga att ladda flera prover

Antalet prover per dag som kan köras ökar alltså om instrumentet har en inbyggd provpreparationsmodul samt om instrumentet kan köra multiplex. Med en provpreparation kan även fler prover laddas samtidigt. Ju fler prover som kan köras varje dag desto billigare blir provsvaren.

### **7.2.3 Konkurrenternas förmåga**

I den högra delen av House of quality jämförs konkurrenternas förmåga med den egna produkten. Baserat på studien av kunders behov går det sedan att analysera vilka tekniska funktioner som bör optimeras för att kundens behov ska tillfredsställas bättre av den egna produkten än av konkurrenternas produkt. Parametrarna som jämförts redovisas i tabell 10 i avsnitt 7.4.



**Figur 14 Konkurrenternas förmåga vid antikroppsanalys. (A) Arbetstid per provsvar, (B) Total analystid, (C) Detekterar en liten mängd bakterier, (D) Instrumentet ger få falska positiva utslag, (E) Instrumentet klarar att köra många prover per dag, (F) Instrumentet klarar av att köra flera prov samtidigt, (G) Förmåga att testa både protein och DNA, (H) Instrumentet ska vara mobilt, (I) Pris för inköp, (J) Pris per provsvar, (K) Instrumentets underhållskostnader är låga, (L) Förmåga att kvantitativa istället för kvalitativa data, (M) Instrumentet kräver lite underhåll.**

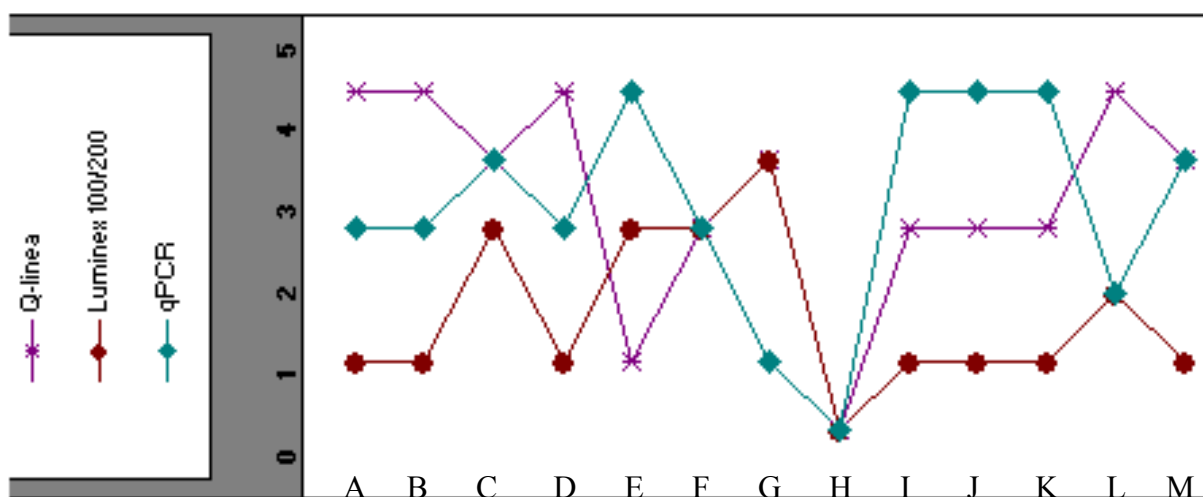
De egenskaper som har tagits i beaktande är de samma som kunden har fått vikta i den vänstra delen av huset. Det instrument som ansågs bäst i varje egenskapskategori har fått fem poäng, det näst bästa tre poäng och det sämsta 1 poäng. Figur 14 visar på att Q-lineas instrument är bäst i åtta kategorier när antikroppsanalys jämförs. De kategorierna är:

- Arbetstid per provsvar
- Total analystid
- Detektion av en liten mängd bakterier
- Få falska positiva utslag
- Förmåga att testa både protein och DNA
- Låga underhållskostnader
- Förmåga till kvantitativa svar
- Låga underhållskrav

Q-linea delar förstaplatsen i två kategorier; inköpspris och pris per provsvar.

Q-linea är klart sämst i en kategori; antal prover per dag, och delar sista platsen i en kategori; förmåga att köra flera prover samtidigt. Inget av instrumenten är mobilt.

Vid DNA-analys ser förhållandena i stället ut som i figur 15.



Figur 15 Konkurrenternas förmågor vid DNA-analys. . (A) Arbetstid per provsvar, (B) Total analystid, (C) Detekterar en liten mängd bakterier, (D) Instrumentet ger få falska positiva utslag, (E) Instrumentet klarar att köra många prover per dag, (F) Instrumentet klarar av att köra flera prov samtidigt, (G) Förmåga att testa både protein och DNA, (H) Instrumentet ska vara mobilt, (I) Pris för inköp, (J) Pris per provsvar, (K) Instrumentets underhållskostnader är låga, (L) Förmåga att kvantitativa istället för kvalitativa data, (M) Instrumentet kräver lite underhåll.

Vid DNA-analys är Q-linea klart bäst i fyra kategorier:

- Arbetstid per prov
- Total analystid
- Få falska positiva svar
- Förmåga till kvantitativa data

Q-linea delar förstaplatsen i fyra fall:

- Detekterar en liten mängd bakterier
- Förmåga att köra flera prover samtidigt
- Förmåga att köra både DNA och protein
- Instrumentet kräver lite underhåll

Inget av instrumenten är mobila. Q-linea är klart sämst i ett fall; ett stort antal prover per dag.

#### 7.2.4 Sammanfattning

Viktigast för kunderna är den totala analystiden. I de tekniska delarna så berör detta amplifikationstiden, som kunden alltså vill ha så kort som möjligt. Detta har negativ inverkan på känsligheten. I både antikroppsanalysen och DNA-analysen är Q-linea bättre än konkurrenterna i kategorin total analystid.

Förmågan att klara av ett stort antal prover per dag är också viktig för kunden. Denna ökas av multiplexförmåga, provpreparationsförmåga och förmågan att kunna ladda flera prover. Multiplexförmågan och provpreparationsförmågan ger båda ett avsevärt dyrare instrument. Men enligt de viktade kundbehoven är inte ett lågt pris vid inköp viktigt. I förhållande till



konkurrenterna är dock Q-linea klart sämst i kategorin antal prover per dag i både antikropps- och DNA-analys. Detta är alltså något som bör förbättras.

Få falska positiva utslag är starkt kopplat till instrumentets precision. En högre precision ger en lägre känslighet, något som redan har diskuterats i frågan om analystiden. Få falska positiva utslag är även något som Q-linea är bäst på både i DNA- och antikroppsanalys.

Vidare är förmågan att kunna köra flera prov samtidigt viktig i kundens ögon. Detta har också att göra med att kunna ladda flera prov samtidigt och därmed multiplex och provpreparationsförmåga, vilket har diskuterats ovan. Bland sina konkurrenter så är ett företag bättre än Q-linea och ett lika bra vid antikroppsanalys. I DNA-analys hamnar företagen på samma plats. Detta är alltså något som kan ge en stark POD (point of difference) om det förbättras.

För att sammanfatta så bör Q-lineas instrument ha en bra multiplex, inbyggd provpreparationsförmåga samt generera få falska provsvar.

### 7.3 Q-lineas positionering på marknaden

Av de tio viktigaste egenskaperna för de kunder som intervjuats handlar sju om att på ett smidigt sätt kunna analysera en stor mängd prover, de tre andra handlar om att öka laboratoriets flexibilitet (förmåga att testa både DNA och protein), att ge pålitliga provsvar och att klara av svåra provmaterial.

qPCR-instrument marknadsförs i princip alltid som ”snabbt” och ”noggrant”. De genomförda tidsstudierna och intervjuerna visar på att dessa argument ej ger genomslag hos kunderna. Ur ett teoretiskt perspektiv kan detta tolkas som att instrument riktade mot marknaden för DNA-baserad diagnostik alltid förväntas kunna leverera snabba och korrekta resultat. Att marknadsföra sig som snabb och noggrann är alltså nödvändigt för att positionera sig på marknaden. Men det ger inga fördelar gentemot företag som redan positionerat sig på marknaden (Keller & Tybout 2002). Kotler ställer upp följande krav på differentierande marknadsföringsbudskap (Kotler 1999):

- Viktig, kunden uppfattar skillnaden som viktig.
- Distinktiv, skillnaden ska inte tydligt marknadsföras av konkurrenter.
- Överlägsen, den marknadsförda skillnaden ska vara en sådan skillnad att produkten är bättre än sina konkurrenter på området.
- Kommunikerbar, kunder måste kunna förstå och se skillnaden.
- Hållbar, konkurrenter ska ej snabbt kunna kopiera skillnaden.
- Ekonomiskt fördelaktig, kunden ska ha råd att betala för skillnaden.
- Lönsam, företaget måste tjäna på att lansera skillnaden.

Baserat på intervjuer och svar från potentiella kunder är det viktigaste att bygga ett instrument där arbetstiden per prov minimeras.

Ett lämpligt marknadsföringsbudskap kan baseras på ”points of difference” (POD) och ”points of parity” (POP). Viktigt att komma ihåg om POP är att dessa argument kan användas på två sätt. Dels att via sin POP positionera sig på en marknad och visa att man är aktuell.

Men även genom att använda sin POP för att minska värdet av en konkurrents POD (Keller & Tybout 2002). Några POP och POD:s som identifierades var:

- Snabb och noggrann, som många andra också förespråkar som sina styrkor och därför är det viktigt att visa att man tillhör marknaden genom att poängtera snabbhet och noggrannhet (POP). Detta är en POP som har varit en POD på marknaden tidigare. Men i dagsläget används denna av alla även om de inte är snabbast och noggrannast.
- Rolling circle amplification-tekniken gör det möjligt att ersätta både ELISA och qPCR med ett enda instrument (POD).
- Automatiserad provpreparation och effektiv mjukvara gör att analytiker ej behöver övervaka instrumentet (POD).
- Förmåga till multiplex ökar antalet provsvar (POD).

Dessa marknadsbudskap positionerar Q-linea tydligt som en aktör på marknaden för mikrobiologisk diagnostik och pekar på i dagsläget unika kundfördelar som andra företag ej erbjuder (se bilaga 4). En stor risk är att Luminex följer denna positionering om budskapet om att ersätta både qPCR och ELISA visar sig framgångsrikt. Luminex Corporation har en stark position och är ett etablerat varumärke inom medicinteknik vilket gör att de i så fall skulle vara en mycket farlig konkurrent med förmåga att positionera sig som marknadsledande inom instrument som klarar av att kombinera antikropp- och DNA-analys i ett enda instrument.

För Q-linea blir det då mycket viktigt att ha nått tillräcklig styrka för att kunna bygga upp ett marknadsföringsbudskap. Där högre noggrannhet och känslighet (Jarvis *et al* 2006, Li *et al* 2009, Luminex *www*, Melin *et al* 2007) definierar Q-linea i förhållande till Luminex (Kotler 1999). I kundens huvud är Q-linea en pionjär eftersom företaget positionerar sig som ersättare av både qPCR och ELISA. Luminex får då möjlighet att snabbt positionera sig som följare och för Q-lineas del innebär detta att de måste kunna visa att de är bättre (Tellis & Golder 2006, Uggla 2006).

### 7.3.1 Ett instrument optimerat för SVA

Baserat på ingående intervjuer med anställda på SVA, tidsstudier och konkurrentanalysen skulle ett instrument med förmåga enligt tabell 9 uppfylla alla de behov som de intervjuade givit uttryck för. Detta material måste kritiskt analyseras eftersom intervjuerna genomförts med personer vars svar baseras på deras nuvarande referensramar. Ett exempel på detta är att den totala analystiden värderas mycket högt trots att det i de flesta fall räcker att proven är klara samma dag som de kommer in. Skälet till detta är troligtvis att nuvarande arbete sker sekventiellt, en provplatta måste vara färdig innan den kan sättas in i nästa maskin och laboratoriepersonal får det stressigt om mer än en platta i taget ska hanteras (Teknisk fördjupning Tomas Klingström, ej publicerad). Genom att integrera provpreparation, protokollföring och analyssteget skulle det vara möjligt att öka antalet prover per dag även om analysinstrumentet är långsammare än en PCR-maskin.

**Tabell 9 Ett instrument som är bäst av alla på allt**

Ranking			Vikt
1	Total analysid	> 160 min per batch	9,7
1	Instrumentet klarar av att köra många provsvar per dag	600 provsvar per 8h	9,7
1	Effektiv protokollföring	Integrerad med befintliga datorsystem	9,7
4	Batch	96 hålsplatta	8,3
4	Instrumentet ger få falska utslag	Max 0,2 %	8,3
4	Instrumentet klarar av att köra många olika provsvar samtidigt	11 multiplex	8,3
4	Förmåga att testa både DNA och protein	Ja	8,3
8	Förmåga att ge kvantitativa istället för kvalitativa provsvar	Ja	7,6
8	Klarar svåra provmaterial	Blod blandat med EDTA, inhibitorer som kattsand blandat med kattbajs	7,6
10	Instrumentet kräver lite underhåll	Kalibrering kvartalsvis, genomkörning årsvis	6,9
11	Manuell arbetstid per provsvar	>30 min per batch	6,3
11	Detekterar en liten mängd bakterier	20 DNA kopior (qPCR) eller 70 viruskapsider (ELISA)	6,3
13	Pris för inköp	400 000	4,2
13	Instrumentets underhållskostnader är låga	10 000 kr per år	4,2
15	Pris per provsvar	17 kr förbrukningsmaterial och 7 kr arbetstid	2,8
16	Instrumentet ska vara mobilt	Nej	0

Baserat på de tekniska begränsningar som anges i House of Quality-studien är följande parametrar av särskilt intresse eftersom de på en teknisk nivå motverkar varandra:

- Amplifikationstid (analysid) kontra känslighet.
- Multiplexförmåga kontra underhållsbehov.
- Känslighet kontra precision.
- Multiplexförmåga kontra flera andra funktioner

### 7.3.2 Amplifikationstid kontra känslighet

En längre amplifikationstid innebär att DNA-nystanen blir längre och att det därigenom finns fler inbindningsplatser för fluoroferna. Ljusstarka fluorofer är lättare för analysprogrammet att urskilja än ljussvaga. I Q-lineas instrument är det genomflödet i detektionsmodulen och tiden mellan att instrumentet startas och första detektionen som kan påverka analystiden/genomflödet per dag. Därför innebär en minskning av analystiden endast en ökning av provhanteringskapaciteten som motsvarar det antal minuter som sparas innan det första provet kan sättas in i detektionsmodulen. Mjukvaruinställningar där de enklaste provanalyserna genomförs först skulle alltså i stor utsträckning uppfylla kundens behov trots att endast ett fåtal prover genomförs med en minskad känslighet.

### 7.3.3 Multiplexförmåga kontra känslighet

Multiplexförmågan innebär en viktig konkurrensfördel för Q-linea eftersom provpaket är ett ökande segment inom veterinärdiagnostiken vilket även visas av SVA:s samarbete med Luminex Corporation kring utveckling av provpaket för kycklingprover. För att instrumentet ska kunna tävla med nuvarande instrument i förmåga att leverera många provsvar per arbetsdag är det därför nödvändig med multiplexförmåga.

### 7.3.4 Känslighet kontra precision

Avvägningen handlar om var bildanalysen ska dra gränsen för bakgrundsbrus. Eftersom laboratorierna ej genomför uppföljning av felaktiga provsvar saknas i dagsläget förmågan att utvärdera om Q-linea gör en bra eller dålig avvägning på detta område. För att värna företagets integritet är det däremot nödvändigt att noggrant se till att framtida studier levererar resultat som överensstämmer med företagets egna data.

### 7.3.5 Multiplexförmåga kontra flera andra funktioner

Multiplexförmågan innebär en kostnadsökning eftersom flera lasrar med olika våglängder måste sättas in i instrumentet. Dessutom ökar kalibreringskraven eftersom optiken blir mer avancerad och risken för överslag mellan olika fluorofer ökar. Ett alternativ skulle vara att arbeta som Tecan EVOLyzer där ett prov delas upp i flera provbrunnar under arbetet och varje provbrunn testas för en patogen. Det faktum att Q-lineas flaskhals är detektionsmodulen innebär att detta alternativ är olämpligt för laboratorieinstrument.

## 7.4 Produktöverlägsenhet

Enligt Cooper (1979a) är produktöverlägsenhet den enskilt viktigaste faktorn för att en produkt ska bli framgångsrik. Tabell 10 visar egenskaperna hos Q-lineas instrument, Luminex 100/200, Applied Biosystems 7500 Fast samt Tecan EVOLyzer. Tabellen är sorterad efter hur viktiga de olika egenskaperna bedömts av ansvariga på SVA som i nuläget använder Applied Biosystems 7500 och Tecan EVOLyzer. Jämförelsen visar att Q-linea ur ett tekniskt perspektiv skiljer sig från konkurrenterna genom kort analystid (se 7.4.1, Medelväntetid för analysvar), få falska provsvar, multiplexförmåga, förmåga att testa både protein och DNA och att den levererar kvantifierbara resultat. Luminex 100/200 är här det instrument som ligger närmast

Q-linea eftersom det också erbjuder kvantifierbarhet och förmåga att testa förekomst av både DNA-motiv och protein.

Q-lineas instrument har kortast analysid men hanterar ändå färre prov per dag vilket beror på att detektormodulen endast klarar av ett prov i minuten. Applied Biosystems 7500 och Tecan EVOlyzer genomför sin detektion i batcher med 96 prov i taget vilket gör att fler prover kan köras parallellt. Luminex 100/200 klarar precis som Q-lineas instrument bara av ett prov i taget i detektionsmodulen men gör det med en mycket högre hastighet (96 prov på 40 minuter).

**Tabell 10 Olika instruments förmåga. För att tydliggöra de områden där Q-lineas instrument har en signifikant fördel gentemot traditionella instrument och som även bedöms som viktiga av kunder är dessa markerade i fet stil. \*Fel där antikroppar bundit ospecifikt eller felaktig DNA amplifikation genomförts tillkommer. \*\*Q-lineas instrument levererar första provsvaret efter ca 40 min och därefter ett provsvar i minuten. \*\*\*Ett patent går ut efter nyår vilket minskar kostnaden till 18 kr.**

Ranking		Q-linea	Luminex 100/200™	Applied Biosystems 7500 Fast	Tecan EVOlyzer
<b>1</b>	<b>Total analysid (från start till 96 provsvar)</b>	<b>136** min</b>	<b>250 min (PCR), 30+ 120 min (ELISA)</b>	<b>210 min</b>	<b>30+160 min</b>
1	Antal provsvar instrumentet klarar av att leverera per 8h	440 st	~550 (PCR) ~830 (ELISA)	~640 st	~550 st
1	Effektiv protokollföring	Ja	Nej	Nej	Ja
4	Batchstorlek	96	96	96	5*92
4	<b>Få falska provsvar</b>	<b>&lt;0,02%*</b>	<b>&lt; 2%*</b>	<b>Ja</b>	<b>Beror på kitet</b>
4	<b>Multiplexförmåga</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>Nej</b>	<b>Nej</b>
4	<b>Förmåga att testa både förekomst av både DNA-motiv och protein</b>	<b>Ja</b>	<b>Ja</b>	<b>Nej</b>	<b>Nej</b>
8	<b>Förmåga att ge kvantitativa istället för kvalitativa provsvar</b>	<b>Ja, ökad analysid</b>	<b>Ja</b>	<b>Påstås men ej praktiskt</b>	<b>Nej</b>
8	Klarar svåra provmaterial	Ja	Nej	Nej	Nej
10	Instrumentet kräver lite underhåll	Ja	Ej känt	Ja	nej
11	Manuell arbetstid per batch	40 min	115 min	100 min	68 min
11	Minsta mängd bakterier/antikroppar för detektion	20	~20 st (DNA), 10 <sup>3</sup> cfu/mL (ELISA)	~20 st	Beror på kit
13	Pris för inköp	500 000 kr	525 000 kr +preparationsrobot	400 000 kr + preparationsrobot	1,1Mkr
13	Underhållskostnader per år	10 000 kr	Ej känt	15 000 kr	80 000 kr
15	Pris per provsvar	20 kr	20 kr	36 (18***) kr	17 kr
16	Instrumentet är mobilt	Tekniskt möjligt	Nej	Nej	Nej

Luminex får istället problem vid detektion av DNA-motiv vilket beror på att instrumentet kräver att PCR-amplifiering genomförs innan detektion med mikrosfärer kan genomföras. Dessutom innebär steget med identifiering av rätt mikrosfär att fler felaktiga provsvar erhålls än vid qPCR eller detektion med Q-lineas instrument (Luminex [www](http://www.luminexcorp.com)). Däremot innebär den höga multiplexförmågan att instrumentet kan få en mycket hög provhanteringskapacitet om multiplexförmågan utnyttjas (se figur 20, antal provsvar levererad per arbetad timme).

#### 7.4.1 Medelväntetid för analysvar

I syfte att beräkna medelväntetiden för ett provsvar har aritmetiska summor härletts i syfte att skapa funktioner som beskriver medeltiden för provanalyser. Den tid som en analys i medeltid tar är summan över den tid alla provsvar tar delat med antalet prov. Medelväntetiden  $V$  kan då uttryckas som en funktion beroende av hur ofta prover sätts in i maskinen samt hur många som sätts in vid varje tillfälle:

$F$  = Hur många gånger i timmen prov sätts i maskinen.

$A$  = Är antalet prov som sätts in vid varje tillfälle.

$$V = \frac{\sum_{N=0}^{N=A-1} 40+N}{A} = \frac{\sum_{N=1}^{N=A} 40+(N-1)}{A} = \frac{40A * \sum_{N=1}^{N=A} (N-1)}{A} = \frac{40A + \frac{A(2(1-1) + (A-1))}{2}}{A} = 40A + \frac{(A-1)}{2}$$

(Se Mathematics Handbook 5:e upplagan sida 192 för härledning av övergången från den aritmetiska summan till funktionen)

Då  $A \geq 1$  och  $0 < F * A \leq K$  eftersom:

$$\sum_{N=0}^{\infty} F * A - K \rightarrow \infty \text{ då } F * A > K$$

Vilket innebär att medelväntetiden går mot oändligheten då antalet tillsatta prov per timme överstiger instrumentets maxkapacitet.

Q-lineas instrument har en random access-funktion vilket innebär att analysen omedelbart påbörjas då ett prov sätts in. Instrument som saknar denna funktion kan endast ta emot prover i batcher där flera prov hanteras samtidigt. Den praktiska effekten av detta är att Q-lineas instrument ger en kortare väntetid då få prover sätts in ofta eftersom belastningen på detektormodulen minskar. De andra instrumenten får däremot en längre svarstid eftersom proven samlas upp i batcher innan analysen kan påbörjas. Detta innebär även att den aritmetiska summan blir mer komplicerad. För att ändå hålla beräkningen överskådlig används här en modell som endast gäller då  $F = \infty$  samt som tidigare  $A \geq 1$  och  $0 < F * A$ .

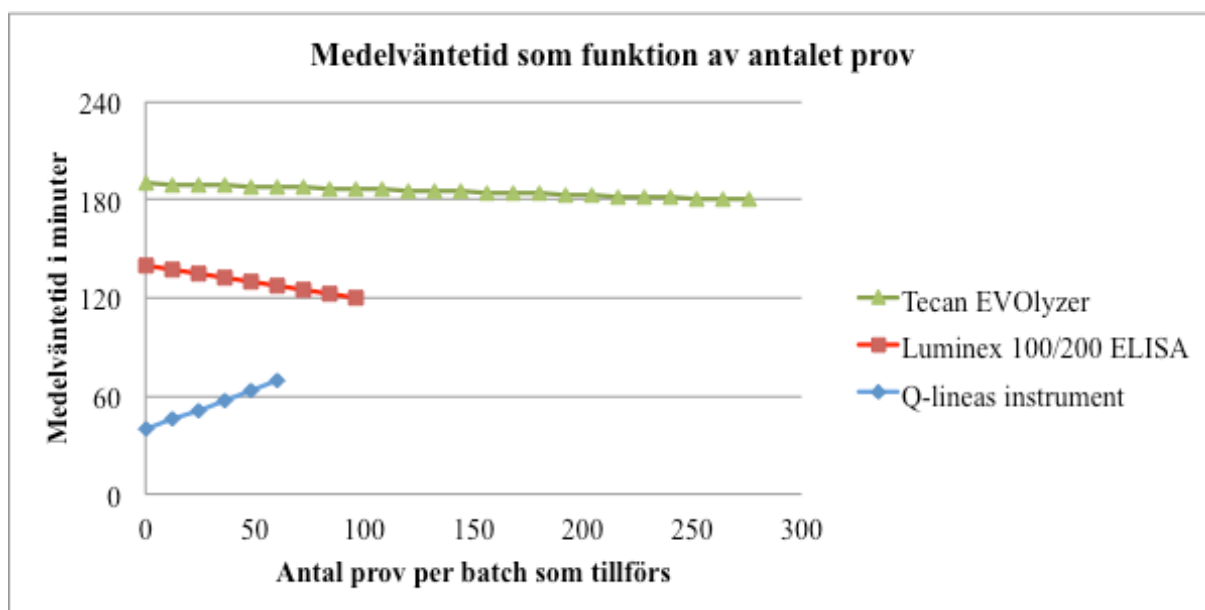
P = tiden för provpreparation.

D = tiden i detektorn (hastighetsbestämmande steget).

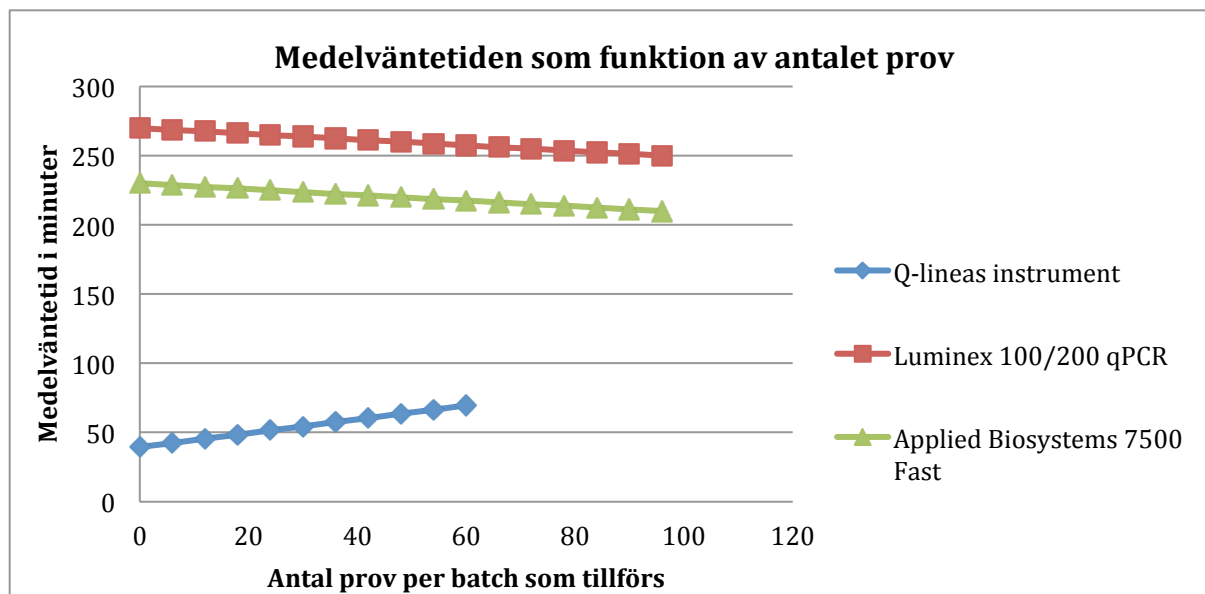
A = antalet prover som sätts in vid varje tillfälle.

$$V = (P + D) + \frac{D * 95}{96 * 2} - \frac{D}{96} \sum_{N=1}^{N=A} \frac{N - 1}{A} = (P + D) + \frac{D * 95}{96 * 2} - \frac{D}{96 * 2} * (A * (A - 1) / A)$$
$$= (P + D) + \frac{D * 95}{96 * 2} - \frac{D}{96 * 2} * (A - 1)$$

Resultaten av dessa två modeller redovisas i figur 16 och 17. För laboratorier med höga krav på snabb analys och små krav på analyskapacitet innebär Q-lineas instrument ett överlägset alternativ. Där analystiden under optimala förhållanden kan kortas till någonstans mellan 1/3 och 1/5 av den normala analystiden hos en traditionell ELISA- eller qPCR-analys. Den analysmetod som kommer närmast Q-linea i snabbhet är Luminex100/200 som vid antikroppsanalys och provvolymerna nära Q-lineas instrumentets maxkapacitet tar dubbelt så lång tid.



Figur 16 jämförelse mellan instrument som genomför analys motsvarande ELISA. Q-lineas instrument har en medelväntetid på 40 min då ett prov i minuten sätts in och 69,5 minuter då 60 prover sätts in var 60:e minut. Luminex 100/200 har en medelväntetid på 139,8 minuter då ett prov i minuten lämnas in och 120 minuter då 96 prover lämnas in var 40:e minut. Tecan EVOLyzer beräkningen är baserad på en detektionstid på 20 minuter och att instrumentet kan köra 3 st 96-hålsplattor åt gången.

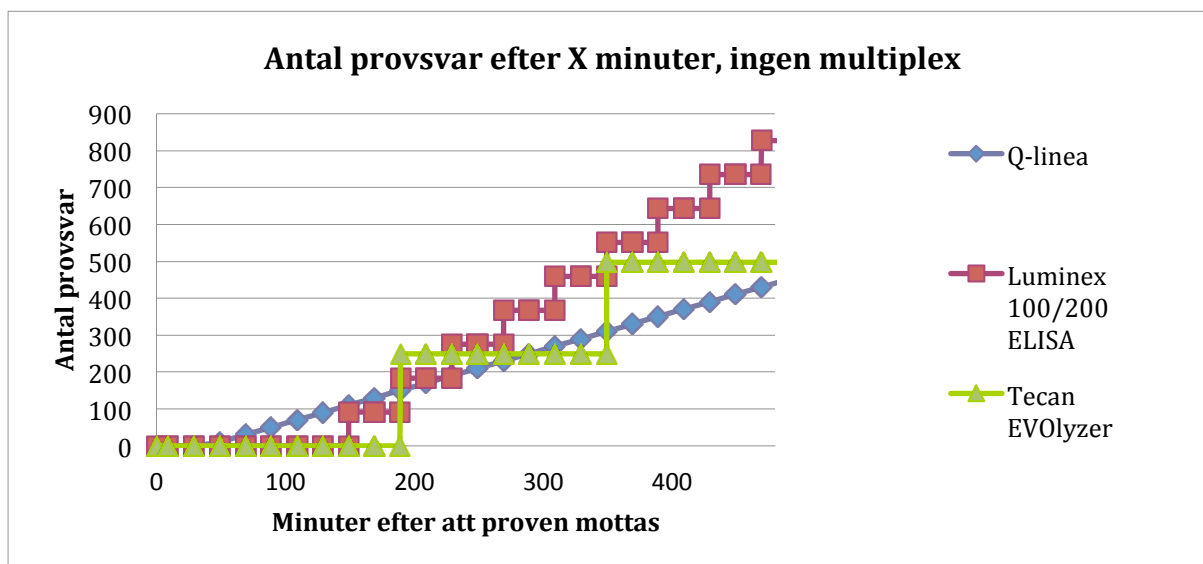


**Figur 17 Jämförelse mellan instrument som genomför analys motsvarande PCR. Q-lineas instrument har en medelväntetid på 40 min då ett prov i minuten sätts in och 69,5 minuter då 60 prover sätts in var 60:e minut. Luminex 100/200 har en medelväntetid på 270 minuter då ett prov i minuten lämnas in och 250 minuter då 96 prover lämnas in var 40:e minut. Applied Biosystems 7500 Fast har en medelväntetid på 230 minuter då ett prov i minuten lämnas in och 210 minuter då 96 prover lämnas in var 40:e minut. Eftersom det hastighetsbestämmande steget i analysmodulen och batchstorlek är identiskt i Luminex 100/200 och Applied Biosystems 7500 Fast är det endast tiden för att preparera provet som i praktiken skiljer sig mellan de två analysmetoderna.**

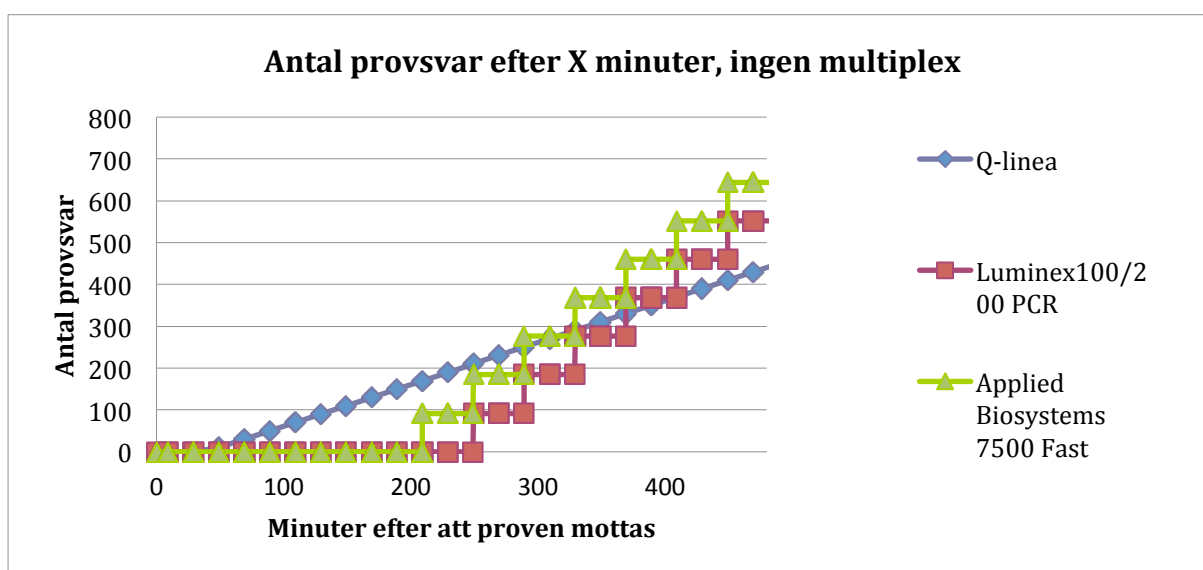
#### 7.4.2 Antal provsvar levererade per arbetad timme

För laboratorier är antalet provsvar per arbetsdag av mycket stor vikt eftersom det är gränssättande för laboratoriets inkomster. I syfte att öka antalet provsvar som levereras går laboratorier allt mer mot att sälja provpaket snarare än enskilda undersökningar. Detta gör multiplex (att testa flera provsvar ur samma prov) till en kostnadseffektiv lösning för att öka antalet provsvar. SVA arbetar dagtid vilket innebär att 8 timmars arbetsdag är en naturlig utgångspunkt för att studera instrumentens förmåga att leverera många provsvar (figur 18, 19, 20 och 21).

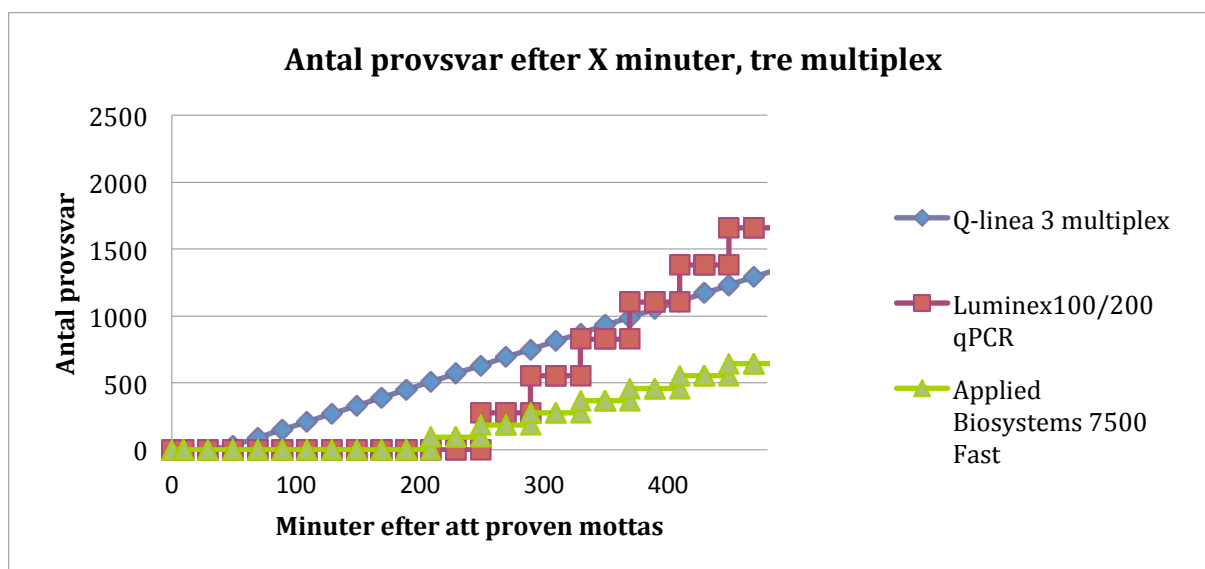




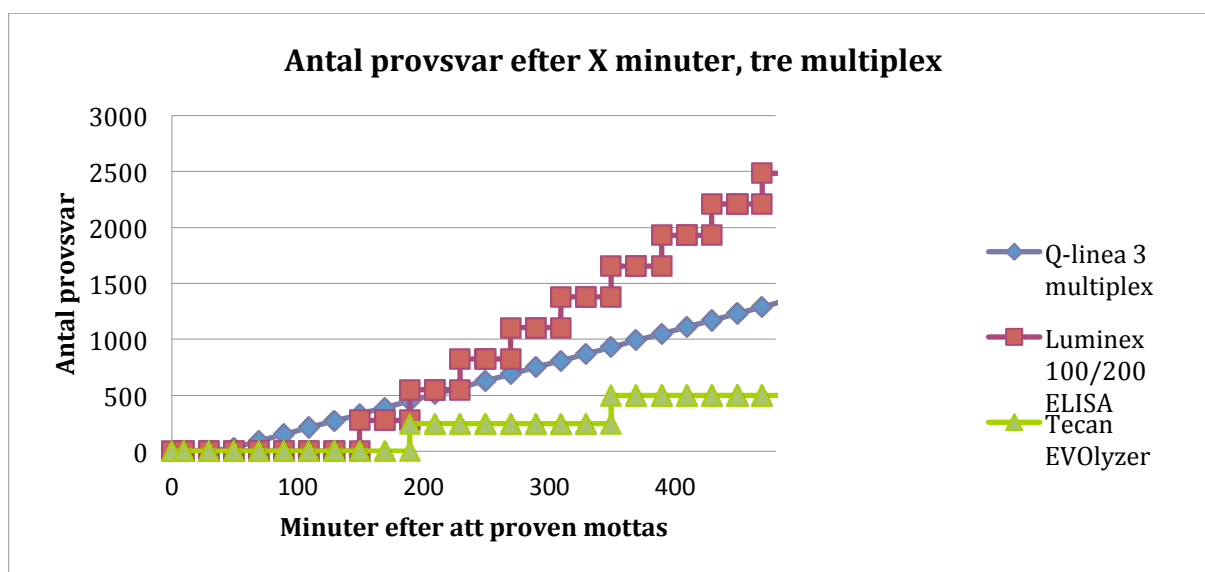
**Figur 18** antikroppsanalys utan multiplex. Q-linea har kortast tid innan svar börjar levereras men kan under en dag endast leverera ungefär hälften så många provsvar som Luminex 100/200 (470 jämfört med 828). Tecan EVOlyzer hinner på grund av den lång preparationstiden endast med att leverera två batcher, men med förmågan att leverera tre 96-hålsplattor per gång blir antalet svar ändå mycket högt. De strikta tidsgränserna missgynnar även Tecan EVOlyzer. Efter ytterligare en halvtimme skulle en tredje batch vara klar vilket skulle innebära ytterligare 288 provsvar.



**Figur 19** Q-lineas instrument är återigen snabbast på att leverera svar men begränsas av kapaciteten i detektionsmodulen. Applied Biosystems etablerade qPCR teknik har högst kapacitet med 736 provsvar. Luminex 100/200 hinner med en platta mindre på grund av inkubationstiden då mikrosfärerna binder det amplifierade DNA:t. Q-lineas instrument som har lägst kapacitet levererar 470 provsvar.



**Figur 20** Visar på värdet av multiplexförmåga. Luminex 100/200 och Q-lineas instrument har relativt varandra ej förändrats men levererar nu 3 ggr så många provsvar. Med traditionell qPCR är multiplexförmågan begränsad vilket innebär att man ej kan öka antalet provsvar. Istället skulle antalet prover som kan hanteras på en arbetsdag behöva minskas med en tredjedel om tre provsvar söks i varje prov.



**Figur 21** Visar motsvarande situation vid antikroppsbasead analys. Luminex 100/200 och Q-lineas instrument har relativt varandra ej förändrats men levererar nu 3 ggr så många provsvar medan antalet ELISA svar ej har ökat.

Dessa tabeller ger en i stort rättvisande bild av de olika instrumentens kapacitet. Viktigt att notera är dock att tester på qPCR visar att SVA i framtiden kan använda 3-multiplex i sitt Applied Biosystems 7500 Fast instrument (se noteringar från tidsstudie qPCR). Däremot är det osannolikt att 5- eller 9-multiplex skulle vara genomförbart med dagens qPCR. Vid höga provvolymen inför SVA skiftgång i laboratoriet, vid dessa tillfällen ökar de konkurrerande metodernas fördel gentemot Q-lineas instrument eftersom uppstartstiden får en minskad

påverkan. Vid treskift med kontinuerlig gång nås det jämviktsläge som beskrivs i avsnitt 19.2. Q-lineas instrument har då en kapacitet på 60 prov i timmen medan Luminex 100/200 och Applied Biosystems 7500 Fast kan hantera 96 prov var fjortonde minut. Tecan EVOlyzer ska vid tester på SVA där endast antikroppar mot Blue tongue kommit upp i en analyskapacitet på 2800 prover per arbetsdag (350 prov i timmen) kunnat hanteras. De siffror som har presenterats i avsnitt 19 gäller för analyser där flera olika prover genomförs vilket är den normala hanteringen i ett laboratorium.

## **8 Marknadens värde i relation till alla andra marknader**

### **8.1 Veterinärmedicin som sekundärmarknad**

Det har i arbetet visats att Q-linea kan innebära en signifikant besparing för veterinärdiagnostiska laboratorier. Men att utvecklingskostnaden måste fördelas på så många sålda instrument att det överstiger den svenska marknadens storlek (se avsnitt 6.1, Business case). För laboratorier finns det tekniska fördelar med att byta till Q-lineas teknik. Multiplexförmåga, snabb svarstid och möjligheten att standardisera alla analyser till ett enda instrument ger Q-linea starka försäljningsargument.

För SVA finns möjligheten att Q-linea tillsammans med någon av SVA:s forskningsavdelningar söker EU-finansiering för att utveckla ett instrument för den veterinärdiagnostiska marknaden (eller vilka krav det specifika EU-projektet ställer), det kanske mest realistiska alternativet för att snabbt generera intäkter för Q-linea.

Q-linea har baserat på resultat från denna studie samt den egna studien av marknaden för bestämning av antibiotikaresistens, beslutat sig för att söka riskkapital för att gå in på den humana antibiotikaresistensmarknaden (se avsnitt 8.4, Andra intressanta marknader). Den veterinära antibiotikaresistensmarknaden var enligt intervjuunderlaget inte aktuell, då undersökningar som görs vid diagnostiska laboratorier idag baseras på en etablerad, enkel och billig metodik. Även resistensövervakningen vid SVA baseras på denna metodik vilken också förespråkas inom veterinärmedicinen. Andra marknader som företaget förmedlat att de är intresserade av är forskningsmarknaden, det vill säga en implementering av systemet på olika typer av forskningslaboratorier.

Fördelarna med att gå in på den veterinärdiagnostiska marknaden för Q-linea tas upp i avsnitt 7.1, Hypotes: SVA som ledande användare. Kortfattat är SVA en god referenskund och samarbetspartner som skulle kunna öppna upp till en större marknad i Europa. Då affären initialt inte är inkomstbringande och Q-linea är i behov av kapital har den diskuterats som en sekundärmarknad. Alltså en marknad som Q-linea kommer att penetrera i ett senare skede. Utvecklar Q-linea instrumentet för antibiotikaresistensmarknaden finns det anledning att noggrant tänka över dess utformning så att det även fungerar på den veterinärdiagnostiska marknaden.

En viktig fråga är huruvida Q-linea är en pionjär eller en följare på marknaden. Det är en gammal marknad men en ny produktkategori. Den stora frågan är, som alltid med en produktansättning: när bör den nya produkten introduceras på marknaden? En för tidig introduktion innebär att marknaden inte är mogen eller att produkten inte är färdigutvecklad

medan en för sen innebär missade möjligheter (Lilien & Yoon 1990). Det går ofta bättre för pionjärerna än för följarna, men pionjären måste ta kostnader för utveckling samt möta risken för imitatörer. Om introduktionen blir en succé eller ett misslyckande för pionjären beror på efterfrågan på produkten vid tiden för introduktion – något som är svårt att bedöma tidigt i produktutvecklingen, trots intensiva marknadsundersökningar (Lilien & Yoon 1990).

## 8.2 Marknadsvärdering

För att beskriva när en marknad blir attraktiv designades följande formel:

Nödvändigt minsta värde på marknad > (utvecklingskostnader + avkastningskrav + tillverkningskostnader)

Q-lineas problem är att utvecklingskostnaderna är så höga att det nödvändiga marknadsvärdet understiger högerledet vilket gör en satsning oattraktiv. Ett instrument för bestämning av antibiotikaresistens skulle i stort sett ha samma krav på hög noggrannhet, hög analyskapacitet och användarvänlighet som ett instrument för veterinärdiagnostik. Därför skulle endast kostnaderna för utveckling av reagenskit kvarstå om Q-linea bygger ett instrument för bestämning av antibiotikaresistens men breddar användningsområdet till att omfatta även veterinärdiagnostik.

För Q-linea skulle detta eventuellt vara intressant eftersom man då skulle ha en potentiell Sverigemarknad på upp till 10 instrument (tabell 11, möjliga kunder). Detta skulle innebära en marknadspotential på cirka 5 Mkr i instrumentförsäljning och återkommande reagensinkomster på 15,5 Mkr per år om varje instrument hanterar en provvolym på 212 prover per dag. Med en vinstmarginal på 0 % för instrumentet och 30 % för reagens innebär detta en potentiell årlig vinst på 4,6 Mkr. Därutöver tillkommer inkomster för underhåll där vinstmarginal beräknas vara 50 % och den årliga servicekostnaden cirka 10 000 kr per instrument.

**Tabell 11 Möjliga kunder. Beräkningen är en överslagsräkning baserat på vilka laboratorier som i dagsläget genomför veterinärdiagnostik med metoder motsvarande qPCR och ELISA.**

Laboratorium	Antal instrument	Kommentar
SVA	4	1 bakteriologisk analys (qPCR), 1 virologisk analys (qPCR) och 2 st för serologisk analys (ELISA)
Eurofins	2	1 Eurofins Pegasus (Uppsala) och 1 Eurofins Stein (Jönköping)
Läckeby Djursjukhus	1	Skulle ersätta både qPCR och ELISA
Mikrobiologen	1	Använder i dagsläget endast odlingar
Karlstad djursjukhus	1	Använder i dagsläget endast odlingar

### 8.2.1 Marknadsvärdering Europa

Statistik över antalet djur som kan tänkas var värdefulla nog att få kvalificerad veterinärvård inom EU är svårt att beräkna. Däremot finns statistik över antalet veterinärer i Europa tillgängligt (Federation of Veterinarians of Europe, okänt utgivningsår, se bilaga 5). Om antalet veterinärer kan antas vara proportionellt mot antalet djur som får veterinärvård bör även antalet provsvar och behovet av instrument vara proportionellt mot antalet veterinärer. I Sverige med 1900 veterinärer finns en total potential på 10 instrument vilket innebär ett instrument per 190 veterinärer. SVA levererar varje år ca 310 000 provsvar och fördelat på fyra instrument skulle detta innebära att varje instrument skulle leverera cirka 77 500 provsvar per år (212 provsvar per dag).

Extrapolerat till EU-området, Norge och Schweiz innebär detta en total marknadspotential på ca 826 instrument (se bilaga 5 för antalet veterinärer inom området) och 176 384 reagenskit per dag. Vilket innebär en total marknadspotential på 413 Mkr i instrumentförsäljning och 1,3 Mdr kr per år i försäljning av reagenskit. Q-linea räknar med 0 % vinstmarginal på instrumenten, 30 % på reagensen och 50 % på underhållet. Detta innebär en årligt repeterbar vinstpotential på 390 Mkr för reagens och 4 Mkr för underhåll & service vilket skulle innebära en total vinstpotential på 394 Mkr per år.

Dessa siffror är behäftade med stor osäkerhet eftersom de utgår från antagandet att veterinärer i hela Europa arbetar likadant och att SVA är ett representativt laboratorium.

### 8.3 Geografiskt närliggande marknader

Sverige utgör ett naturligt första steg för Q-linea men eftersom marknaden är mycket liten så kommer Q-linea tidigt att behöva bearbeta andra marknader. På försvarsmarknaden är Q-linea redan etablerat i Europa och har även närvaro på amerikanska CBRN-mässor. En liknande utveckling kan därför förväntas inom veterinärdiagnostiken. Detta innebär att företaget kommer att komma i kontakt med många olika marknadsstrukturer. Norden utgör i många sammanhang en homogen marknad men detta gäller inte inom veterinärdiagnostiken.

Endast Sverige och Finland erbjuder offentlig djursjukvård. I Norge, Danmark och Storbritannien finns inga offentligt anställda veterinärer. Istället upprätthålls beredskapen genom lagreglerad jour eller upphandling med privata aktörer. I Sverige genomförs denna verksamhet av Distriktsveterinärerna på statligt uppdrag och i Finland av kommunveterinärer.

Det är svårt att få tillgång till siffror som täcker den veterinära delen av världens molekylära diagnostik eftersom den veterinära marknaden är en submarknad till den humana. Dessutom finns problem med att skilja mellan de olika marknaderna då många av de större företagen arbetar inom båda områdena.

**Tabell 12 Nyckeldata om veterinärsektorn i Sveriges grannländer (Veterinär fältverksamhet i nya former 2007)**

	Danmark	Finland	Norge	Sverige	Storbritannien
Veterinärtäthet 1 (/100 000 invånare)	46	36	43	28	36
Veterinärtäthet 2 (/100 km <sup>2</sup> )	6	0,5	0,7	0,6	9
Befolkningstäthet	120	17	15	22	245
Kotäthet (mjölkkor)	156	10	10	9	83
Gristäthet	307	4	5	3,5	20
Offentliga inslag i djursjukvården	Nej, enbart privata aktörer	Ja, genom ca 400 kommunveterinärer	Nej, enbart privata aktörer	Ja, genom ca 330 DV	Nej, enbart privata aktörer
Lantbruksdjurens utbredning	Mycket intensiv djurhållning i hela landet	Gles djurhållning, viss koncentration i sydost	Gles djurhållning i hela landet i befolkade delar	Gles djurhållning med koncentration i landets södra hälft	Intensiv djurhållning på 2/3 av landytan, viss koncentration i syd
Myndighetsutövning genom praktiserande veterinärer	Ja, genom timanställning av privatpraktiker	Ja, genom kommunalveterinärerna	Nej, strikt uppdelning offentligt/privat	Ja, i huvudsak genom DV	Ja, privatpraktiker anlitas genom avtal
Joursystem	Ej lagstadgat, följer av DDD:s etiska regler. Fullgörs av privata aktörer	Lagstadgat ansvar för kommunerna, fullgörs genom kommunveterinärer	Lagstadgat ansvar för staten, fullgörs genom privata aktörer med statliga bidrag	Ej, lagstadgat, följer av statligt uppdrag till SJV. Fullgörs av DV	Ej lagstadgat följer av RCVS:s etiska regler. Fullgörs av privata aktörer.
Myndighetsstruktur	Strikt samlad organisation, både horisontellt och vertikalt	Samlad organisation inom djur- och livsmedelsområdet, vertikalt splittrat	Strikt samlad organisation, både horisontellt och vertikalt	Splittrad organisation både horisontellt och vertikalt	Samlad organisation inom djur- och livsmedelsområdet

Världsmarknaden för molekylär diagnostik växer med ca 10 - 25% per år och uppskattas bli ca 8 till 37 miljarder dollar år 2015. På Europeanivå förväntas den nå 1,5 miljarder dollar 2012. Dock bör noteras att in vitro-diagnostik (det vill säga diagnostik som sker i en artificiell miljö) som övermarknad innehåller både molekylär diagnostik och immunoassay samt andra områden. IVD-marknaden värderades till cirka 32 miljarder dollar 2006 med tillväxt på ungefär 7 % per år. Inom hela IVD-marknaden är molekylärdiagnostik den marknad som växer snabbast. Det är inte bara virus- eller bakterierelaterade sjukdomar som bör noteras. Cancer till exempel, omsatte 2009 126 miljarder dollar. PoC (Point of Care) är något som blir allt vanligare och hela marknaden är på väg mot. PoC växer med ungefär 11 % per år. (Debnath *et al* 2010)

## 8.4 Andra intressanta marknader

Under arbetet med kartläggningen av den veterinärdiagnostiska marknaden har några andra marknader uppkommit som intressanta, andra diskuterades innan den veterinärdiagnostiska marknaden valdes som mest intressant.

### 8.4.1 Point of care - mastit

I samtal med bland andra länsveterinären nämndes behovet av snabbtest för mastit. Mastit är detsamma som juverinflammation och är ett stort problem på mjölkkor. Cirka 90 000 kor drabbas varje år av produktionsbortfall p.g.a. allvarliga juverinflammationer i Sverige. Svensk mjölk beräknar kostnaden för varje mastitfall till 2 500 kr (Svensk mjölk [www:a](#)) vilket innebär ett direkt inkomstbortfall på ca 225 miljoner kr per år för Sveriges mjölkbönder (Svensk mjölk [www:b](#)). Dessutom är det vanligt att en eller flera spenar permanent sinar om inte korrekt behandling sätts in snabbt. En tre-spenst ko producerar i medeltal 10 % mindre än en ko med fyra spenar vilket innebär ett ytterligare inkomstbortfall på 2500 kr per år (avräkningspris 3 kr/L mjölk och en årsproduktion på 8324 L mjölk) under djurets återstående livstid.

Mastit behandlas i dagsläget omedelbart med penicillin vilket ofta men inte alltid stoppar infektionen. I vissa fall som till exempel med *Staphylococcus aureus* som är den vanligaste orsaken till mastit (21,3 % av fallen) fungerar penicillin behandlingen mycket bra. I andra fall som t.ex. med *Streptococcus agalactiae* återkommer infektionen ofta när antibiotikabehandlingen avslutats. Eftersom bakterien även ofta sprider sig till andra djur i besättningen kan det bli mycket kostsamt eftersom kroniskt smittade djur måste avlivas för att stoppa vidare spridning. Därigenom finns det mycket stora vinster att göra på att tidigt kunna bestämma vilken bakterie som orsakar mastiten. (SVA [www:f](#))

Kunde Q-linea utforma sitt instrument så att det blev litet, portabelt och billigt så skulle mastitmarknaden vara en lovande marknad. Kamerorna och lasrarna skulle behöva vara betydligt mindre avancerade för att avsevärt sänka priset på instrumentet.

### 8.4.2 Växtskydd

Ett enklare instrument skulle vara intressant även inom växtskydd. Idag görs ca 1400 analyser per år på Sveriges växtskyddscentraler, vilket inte är tillräckligt många för att motivera att utveckla ett instrument speciellt utformat för växtskydd. Kunde landets rådgivare, vilket totalt är ca 300 stycken (av dessa är dock inte alla rådgivare som skulle ha nytta av instrumentet) (HS [www](#)), ta del av ett liknande instrument som veterinärerna som utför mastitprover, så skulle det vara oerhört värdefullt. Hur stora förtjänster som skulle kunna göras för bönderna är svårt att uppskatta. Vinster skulle göras då lantbrukaren i ett tidigare skede kan gå ut och bespruta sina grödor vilket skulle minska produktionsbortfall.

### 8.4.3 Andra mikrobiologiska laboratorier

Under arbetets gång har tanken att vända sig mot en bredare marknad uppkommit, det vill säga mot de mikrobiologiska laboratorier som finns i Sverige. Några av dessa används av djursjukhusen men tar även hand om prover som inte har veterinärmedicinskt ursprung.

Andra prover som de behandlar kommer i liknande medier, det vill säga blod, serum, faeces, på svabb etc. Med reagens för aktuella bakterier och virus kan Q-linea använda sitt instrument även till dessa laboratorier. Exempel på laboratorier är Eurofins och Vidilab.

#### 8.4.4 Antibiotikaresistens i humanvård

Den svenska sjukvården är en mycket stor marknad. På Akademiska sjukhuset i Uppsala görs ca 30 000 – 40 000 resistensbestämningar per år. Av dessa är ca 45 % urinprover, 23 % sårprover, 5 % faecesprover och 27 % övriga prover (där blod- och svalgprover ingår). Utifrån dessa uppgifter uppskattas att det görs mellan 270 000 och 360 000 resistensbestämningar på Sveriges nio regionsjukhus. Idag använder sig sjukhusen av så kallade lapptester, det vill säga att man gör ett utstryk och lägger på en lapp innehållande antibiotika och ser sedan dess effektivitet baserad på storleken på ringen utan växande bakterier runt lappen. Analysen kostar mellan 200 och 400 kr. För inköp av nya metoder förlitar sig Akademiska sjukhuset på ”Referensgruppen för antibiotikafrågor” (RAF). Utredningar av nya metoder kan initieras av RAF, Smittskyddsinstitutet (SMI), Strategigruppen för rationell antibiotikaanvändning och minskad antibiotikaresistens (STRAMA) och Svenska Läkaresällskapet (SLS). Storleken på marknaden och antalet aktiva enheter gör marknaden attraktiv. Ackrediteringen på humanmarknaden utgör en barriär då den är betydligt mer komplicerad än på andra marknader, även en viss motsträvighet mot nya metoder och instrument har upplevts. En utredning om den humana antibiotikamarknaden håller för tillfället på att sammanställas av Q-linea.

## 9 Avslutning

### 9.1 Slutsatser

#### 9.1.1 Marknadens potential

Den sannolika marknaden för ett veterinärdiagnostiskt instrument är inte tillräckligt stor för att det ska vara lönsamt för Q-linea att utveckla ett instrument för den veterinärdiagnostiska marknaden (se avsnitt 6.1, Business case och 8.2, Marknadsvärdering). Däremot skulle Q-linea kunna erhålla stora synergieffekter med ett instrument utvecklat för mätning av antibiotikaresistens. Båda instrumenten skulle ställa höga krav på noggrannhet och förmåga till att kliniskt diagnosticera patogener (se avsnitt 8.1, Sekundärmarknad). SVA som är den största potentiella kunden inom veterinärdiagnostik (se avsnitt 5.1, Veterinärmedicinska marknaden en översikt) söker aktivt samarbeten med SME:er (small-medium enterprises) för EU-finansierade forskningsprojekt. Detta skulle kunna innebära en medfinansiering av analyskit och därigenom bidra till finansieringen av en produktportfölj där Q-lineas instrument kan hantera ett stort antal olika sjukdomar.

Baserat på en förstudie teoretiserades att SVA utgjorde en tydlig lead user på den svenska marknaden. Intervjuer med SVA och undersökningar hos andra kunder motbevisade denna hypotes (se avsnitt 5.2, SVA som ledande användare). Detta innebär att värdet av gemensamma utvecklingsprojekt urholkas. Eftersom andra kommersiella kunder upplever att



de ej har samma förmåga och behov som Q-linea minskar även värdet av SVA som referenskund (Moore 2002, se även avsnitt 7.2, House of Quality).

Hur potentiella kunder föredrar att betala för sina instrument skiljer sig även mellan SVA och renodlat kommersiella laboratorier. För SVA är det bättre med en hög direktkostnad eftersom nya instrument finansieras med särskilda anslag. För övriga laboratorier som har årliga lönsamhetskrav är det däremot viktigt att hålla kostnaderna nere och kunna slå ut dessa över en längre tidsperiod (se avsnitt 6.2, Finansieringsalternativ).

### 9.1.2 Förmåga till produktöverlägsenhet

Q-linea har förmågan att producera ett instrument med överlägsenhet inom kvantifierbarhet, användarvänlighet och kort analystid. Däremot saknar ett instrument från Q-linea förmåga att fullt ut hantera batchkörningar eftersom detektionsmodulen är för långsam. Detta innebär att Q-linea i jämförelse med konkurrerande instrument har en förhållandevis låg provkapacitet per dag (se avsnitt 7.4, Produktöverlägsenhet). Multiplexförmåga kan i stor utsträckning kompensera för denna svaghet vilket även stämmer överens med behovet av effektiva provpaket där flera tester genomförs på ett prov.

Instrumentets förmåga till hög kvantifierbarhet, multiplex och små krav på manuellt arbete innebär mycket värdefulla förbättringar i vad laboratorier kan rapportera till veterinären (se avsnitt 7.2, House of Quality). Eftersom laboratorier idag inte följer upp felaktiga provsvar innebär detta att den här typen av marknadsföringsbudskap innebär ett större marknadsvärde än tekniska argument som snabbhet och noggrannhet.

För marknadspositionering är lämpliga argument för Q-linea (se avsnitt 7.3, Q-lineas positionering på marknaden):

- Snabb och noggrann, som många andra också förespråkar som sina styrkor och därför är det viktigt att visa att man tillhör marknaden genom att poängtera snabbhet och noggrannhet (POP). Detta är en POP som har varit en POD på marknaden tidigare. Men i dagsläget används denna av alla även om de inte är snabbast och noggrannast.
- Rolling circle amplification-tekniken gör det möjligt att ersätta både ELISA och qPCR med ett enda instrument (POD).
- Förmåga att kvantifiera bakteriemängden i provet.
- Automatiserad provpreparation och effektiv mjukvara gör att analytiker ej behöver övervaka instrumentet (POD).
- Förmåga till multiplex ökar antalet provsvar (POD).

För att Q-linea ska kunna kapitalisera på sina styrkor gäller det därför att antingen fokusera på laboratorier som ej känner sig begränsade av sin provhanteringskapacitet. Eller att lansera sin förmåga till multiplexanalys av provpaket som en ökning av laboratoriets kapacitet. Därutöver är Q-linea väl positionerade för att kunna erbjuda sina kunder signifikanta fördelar i förhållande till nuvarande instrument. För Q-linea är därför en lansering av ett veterinärdiagnostiskt instrument främst en lönsamhetsfråga. Den veterinärdiagnostiska marknaden i Sverige är i dagsläget för liten för att finansiera instrumentutveckling men

erbjuder goda synergi-effekter vid utveckling av ett instrument för antibiotikaresistensbestämning.

## 9.2 Möjligheter att gå vidare

Under hösten 2010 undersökte Q-linea human antibiotikaresistensbestämning som ett parallellt spår till detta arbete. Studierna visar på antibiotikaresistensbestämning är det område som har störst möjligheter till att generera vinst. Eftersom kraven på instrument för de båda marknaderna är likartade är det möjligt att även sälja instrumentet för antibiotikaresistensbestämning till veterinärdiagnostiska laboratorier. Det skulle vara möjligt att finansiera kärnverksamheten genom att sälja rättigheterna för användning inom veterinärdiagnostiken till ett företag med större finansiella muskler.

Licensiering är en modell som kan minska Q-lineas behov av extern finansiering och snabbare nå ut till marknaden inom antibiotikaresistensbestämning. De inkomster Q-linea skulle kunna få från att licensiera ut till aktörer med större muskler skulle innebära en trygg basnivå av inkomster i företaget. I dagsläget drivs företaget på projektbeställningar vilket gör att det är svårt att planera för framtiden då finansieringen täcker mer än ett halvår framöver. Ett problem med licensieringsmodellen är att Q-linea inte äger patentet för tekniken utan licenserar in tekniken från Olink som även är delägare i Q-linea. Q-linea arbetar istället med ett patent för instrumentets utformning.

Ett samarbete med ett redan etablerat veterinärdiagnostiskt företag har en potential att ge ett starkt ekonomiskt stöd till Q-linea. Även om Q-linea i en sådan relation får en mindre del av den totala vinsten. Skulle licenspengarna som återinvesteras i instrumentet för den humana antibiotikaresistensmarknaden innebära en kraftigt ökad sannolikhet för framgång. Q-linea har genom Olink och sitt blivande systempatent en relativt stabil situation vilket är en viktig parameter för att den typen av avtal ska bli framgångsrika (Gans *et al* 2002).

Ett uppköp av endast den veterinärdiagnostiska delen skulle innebära att Q-linea skulle behöva delas upp i två företag. Rent praktiskt skulle detta vara svårt med patenten och kompetensen inom företaget. Det som i sådana fall är kvar är att hela företaget skall säljas i sin helhet och den veterinärdiagnostiska potentialen användas för att öka priset. I dagsläget är Q-linea ett bolag med stark tillväxt. Värdering av bolaget måste grundas på förhoppningar om fortsatt tillväxt vilket innebär en stor riskpremie och därigenom ett sämre försäljningspris. Detta innebär att externa ägare som går in som riskkapitalister är den mest sannolika externa parten med ägarandel. Ett samarbete med en riskkapitalist med kontakter på den europeiska instrumentmarknaden skulle tillgängliggöra värdet på den veterinärdiagnostiska marknaden och därigenom öka värderingen på Q-linea.

### 9.2.1 Nästa steg

Fortsatt arbete med den veterinärdiagnostiska marknaden bör avvakta till dess att:

- Synergieffekter med ett instrument för antibiotikaresistensbestämning kan påvisas

*eller*

- Kontakter med en internationell instrumenttillverkare har etablerats

*eller*

- En riskkapitalist med kapacitet att stödja en internationell lansering har engagerats i företaget.

## 10 Referenser

### 10.1 Skriftliga källor

Alfredéen U. (2001). *Konsten att bygga framgångsrika företag*. Alfredéen Malmström Förlag HB. Falun.

Andersen I. (1998). *Den uppenbara verkligheten – val av samhällsvetenskaplig metod*. Studentlitteratur, Lund.

Bohlen, J.M., Beal, G.M. (1957). The Diffusion Process, *Special Report No. 18* Agriculture Extension Service, Iowa State College. p.56–77.

Cooper, R. G. (2004) Examining some myths about new product "winners". In R. Katz, *The human side of managing technological innovation* (ss 611-621). New York, Oxford University Press

Cooper, R. G. & Kleinschmidt, E. J. (1987) New Products: What Separates Winners from Losers? *Journal of Product Innovation Management* 4:169-184

Cooper, R. G. (1980) Project NewProd: factors in new product success. *European Journal of Marketing* 14:277-292

Cooper, R. G. (1979b). Identifying Industrial new product success: project NewProd. *Industrial Marketing Management* 8

Cooper, R. G. (1979a). The dimensions of industrial new product success and failure. *Journal of Marketing* 43:93-103

Cooper, R. G. (1976) Introducing successful new products. *MCB Monographs, European Journal of Marketing* 10

Debnath M. Prasad G.B.K.S. Bisen S. P. (2010) Molecular Diagnostics: Promises and Possibilities, *Springer Science+Business Media B.V.* pp. 503-513.

Engvall E, Perlman P (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8 (9): 871–4.

Gans J.S., Hsu D. H. & Stern S. (2002). When does start-up innovation spur the gale of creative destruction? *RAND Journal of Economics*. Vol. 33, No. 4, pp. 571-586

Haverila, M. (2010) Factors affecting new product success in technology companies. *International Journal of Product Development* 12 (2), pp. 176-198

Hill R.C., Hellriegel D. (1994). Critical contingencies in joint venture management: some lessons from managers. *Organization Science*. Vol 5, No 4, p. 594-607.

Jarvius J., Melin J., Göransson J., Stenberg J., Fredriksson S., Gonzalez-Rey C., Bertilsson S., Nilsson M. (2006) Digital quantification using amplified single-molecule detection. *Nature Methods*. Sep;3(9):725-7

- Jordbruksdepartementet. (2009). Regleringsbrev för budgetåret 2010 avseende Statens veterinärmedicinska anstalt. Jo2009/3637. Stockholm.
- Kaulio M.A. (1998). Customer, consumer and user involvement in product development: A framework and a review of selected methods. *Total Quality Management and Business Excellens*. 9:1, 141-149.
- Keller, K. L. & Tybout, A. (2002) The principle of positioning. *Market Leader*, Issue 19, Winter 2002, pp.65
- Kotler, P (1999) *Principles of marketing* 2<sup>nd</sup> edition. Prentice Hall Europe
- Lekvall P. & Wahlbin C. (2001). *Information för marknadsföringsbeslut*. IHM Publishing. Göteborg. ISBN: 978-91-86460-85-3.
- Li. H., Turhan V., Chokhani L., Stratton C.W., Dunbar S.A., Tang Y.W. (2009). Identification and differentiation of clinically relevant mycobacterium species directly from acid-fast bacillus-positive culture broth. *Journal of Clinical Microbiology*. Dec;47(12):3814-20. Epub 2009 Sep 30.
- Lilien G.L., Yoon E. (1990). The timing of competitive market entry: an exploratory study of new industrial products. *Management Science*. Vol 36, No 5, p. 568-585.
- Maidique, M. A. & Zirger, B. J. (1983) A study of success and failure in product innovation: the case of the U.S. electronics industry. *IEEE Transactions in Engineering Management* EM-3 1: 192-203
- Melin J., Jarvius J., Göransson J., Nilsson M. (2007) Homogeneous amplified single-molecule detection: Characterization of key parameters. *Analytical Biochemistry*. Sep 15;368(2):230-8. Epub 2007 May 6.
- Miao, C-H (2010) Consumer myopia, standardization and aftermarket monopolization. *European economic review* 54:931-946
- Moore G. (2006). *Crossing the chasm*. Harper Collins publishers. New York. ISBN: 0-06662-002-3.
- Moreau, C. P., Markman, A. B., & Lehmann, D. R. (2001) "What is it?" Categorization flexibility and consumers' responses to really new products. *Journal of consumer research*, 27:489-498
- Peters, T. J. (2004) A skunkworks tale. In R. Katz, *The human side of managing technological innovation*.
- Rothwell, R. (1972) Factors for success in industrial innovations. from *Project SAPPHO – A Comparative Study of Success and Failure in Industrial Innovation*. Brighton, Sussex: S.P.R.U.
- Saunders M., Lewis P., Thornhill A. (2003). *Research methods for business students, tredje upplagan*. Rotolito Lombarda, Italien.
- Schilling M. A. (2008) *Strategic management of technological innovation*. Second edition, McGraw- Hill Education (Asia).

- Schillito, M. L., (2003) Advanced QFD: linking technology to market and company needs. Sida 7-12. John Wiley & Sons, Inc.
- Scott M. & Bruce R. (1987). Five stages of growth in small business. *Long Range planning*. Vol 20, no.3 pp 45-52.
- SFS 2009:1394. (2009). Förordning med instruktion för Statens veterinärmedicinska anstalt. Stockholm.
- Sommer B. & Sommer R. (1997). *A practical guide to behavioral research – tools and techniques*, fjärde upplagan. Oxford University press, Oxford.
- Song, M. & Noh, J. (2006) Best new product development and management in the Korean high-tech industry. *Industrial Marketing Management* 35 262-278
- Tellis, G. J. & Golder, P. N. (1996) First to market, first to fail, real causes of enduring market leadership. *MIT Sloan management review*, vol. 37, no. 1, Winter, 1996 pp. 65-75
- Terninko, J. (1994) Step-by-Step QFD Customer Driven Product Design; First Edition, St. Lucie Press.
- Uggla, H., (2006) Positionering – Teori, trend och strategi. Liber AB, Malmö.
- Urban L. G. & von Hippel E. (1988). Lead User Analyses for the Development of New Industrial Products. *Management Science*, Vol. 34, No. 5, pp. 569-582.
- Van Weemen BK & Schuurs AH (1971). "Immunoassay using antigen-enzyme conjugates.". *FEBS Letters* 15 (3): 232–6.
- Veterinär fältverksamhet i nya former. (2007). Betänkande av veterinärutredningen. SOU 2007:24. Stockholm, Fritzes.
- Von Hippel, E. & Katz, R. (2004) Product concept development through the lead-user method. In R. Katz, *The human side of managing technological innovation* (ss 611-621). New York, Oxford University Press
- Von Hippel, E. (1997). Product concept development through the lead-user method. I: Katz, R. *The human side of managing technological innovation*. Oxford university press. New York pp. 628-641. ISBN: 0-19-513530-8
- Wigblad R. (1996). *Karta över vetenskapliga samband – orientering i den samhällsvetenskapliga metoddjungeln*. Studentlitteratur, Lund.
- Årsredovisning 2009 Statens Veterinärmedicinska Anstalt. (2009). Utgiven av SVA. Uppsala, SVA.

## 10.2 WWW

- DNV. 2010. Fakta om DNV. Det norske veritas.  
[<http://www.detnorskeveritas.se/meromdnv/fakta/>]. Avläst 2010-11-10, 2010-11-24.

HS 2010. Vi finns i hela landet. Hushållningssällskapet.  
[<http://www.hush.se/?p=10177&m=2591>] Avläst 2010-11-08.

Jordbruksverket. 2008. Husdjur i riket efter djurslag: År 1981-2009.  
[<http://statistik.sjv.se/Dialog/varval.asp?ma=JO0103R1&ti=Husdjur+i+rikt+efter+djurslag%2E+%C5r+1981%2D2009&path=../Database/Jordbruksverket/Husdjur/&lang=2>]. Avläst 2010-11-22.

Luminex 2010. Luminex 200 produktspecifikation.  
[[http://www.luminexcorp.com/products/specs/LX200\\_89-60000-00-002.pdf](http://www.luminexcorp.com/products/specs/LX200_89-60000-00-002.pdf)]. Avläst 2010-11-22.

### **Läkemedelsverket**

a. 2009-06-03. God laboratoriesed.  
[<http://www.lakemedelsverket.se/malgrupp/Foretag/Lakemedel/Tillsyn-och-uppfoljning---GMPGDP/God-laboratoriesed-GLP/>] Avläst 2010-11-24.

b. 2010-06-17. Partihandel med läkemedel.  
[<http://www.lakemedelsverket.se/malgrupp/Foretag/Lakemedel/Tillsyn-och-uppfoljning---GMPGDP/Partihandel-med-lakemedel-GDP/>] Avläst 2010-11-24.

c. 2006-02-15. Tillverkning av läkemedel.  
[<http://www.lakemedelsverket.se/malgrupp/Foretag/Lakemedel/Tillsyn-och-uppfoljning---GMPGDP/Tillverkning-av-lakemedel-GMP/>] Avläst 2010-11-24.

Nordisk familjebok. 2010-06-12. Projekt Runeberg. [<http://runeberg.org/nfcf/0570.html>]  
Avläst 2010-11-22.

### **Q-linea**

a. 2010. Company.  
[[http://www.qlinea.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5&Itemid=4](http://www.qlinea.com/index.php?option=com_content&view=article&id=5&Itemid=4)].  
Avläst 2010-09-21.

b. 2010. Collaborative projects.  
[[http://www.qlinea.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=8&Itemid=6](http://www.qlinea.com/index.php?option=com_content&view=article&id=8&Itemid=6)]  
Avläst 2010-09-21.

c. 2010. Technology.  
[[http://www.qlinea.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=3&Itemid=11](http://www.qlinea.com/index.php?option=com_content&view=article&id=3&Itemid=11)]  
Avläst 2010-09-20.

### **SIS**

a. 2008-11-26. Ledningssystem för kvalitet. Swedish standard institute.  
[[http://www.sis.se/DesktopDefault.aspx?tabName=@DocType\\_1&Doc\\_ID=68168&PresID=1&Desc=SS-EN%20ISO%209001:2008](http://www.sis.se/DesktopDefault.aspx?tabName=@DocType_1&Doc_ID=68168&PresID=1&Desc=SS-EN%20ISO%209001:2008)] Avläst 2010-11-24.

b. 2008-11-28. Miljöledningssystem – krav och vägledning. Swedish standard institute.  
[[http://www.sis.se/DesktopDefault.aspx?tabName=@DocType\\_1&Doc\\_ID=38052](http://www.sis.se/DesktopDefault.aspx?tabName=@DocType_1&Doc_ID=38052)] Avläst 2010-11-24.

### **SVA**

a. 2010-02-12. Om SVA. Statens veterinärmedicinska anstalt.  
[<http://www.sva.se/sv/Toppmeny/Om-SVA/>] Avläst 2010-09-06.

b. 2010-08-10. Internationellt samarbete. Statens veterinärmedicinska anstalt.  
[<http://www.sva.se/sv/navigera/Forskning/EU-projekt/>] Avläst 2010-09-07.

c. 2010-09-09. Ledningsgrupp. Statens veterinärmedicinska anstalt.  
[<http://www.sva.se/sv/Toppmeny/Om-SVA/Ledningsgrupp/>] Avläst 2010-09-10.

d. 2008-02-04. SVA:s insynsråd. Statens veterinärmedicinska anstalt.  
[<http://www.sva.se/sv/Toppmeny/Om-SVA/Ledningsgrupp/Insynsrad/>] Avläst 2010-11-22.

e. 2010-10-08. Kvalitetssäkring. Statens veterinärmedicinska anstalt.  
[<http://www.sva.se/sv/Toppmeny/Om-SVA/Internationell-kvalitetsmarkning-/>]. Avläst 2010-11-10, 2010-11-24.

f. 2010-06-23. Mastit orsakad av *Streptococcus agalactiae*. Statens veterinärmedicinska anstalt. [<http://www.sva.se/sv/navigera/Djurhalsa/Not/Sjukdomar-hos-notkreatur/Mastit-orsakad-av-Streptococcus-agalactiae-hos-notkreatur/>]. Avläst 2010-11-07

### **Svensk mjölk**

a. 2010. Beräkningsunderlag till Hälsopaketet Mjölks djurhälsokostnader.  
[[http://www.svenskmjolk.se/ImageVault/Images/id\\_2749/ImageVaultHandler.aspx](http://www.svenskmjolk.se/ImageVault/Images/id_2749/ImageVaultHandler.aspx)] Avläst 2010-11-08.

b. 2010. Svensk Mjölks statistik om mjölkproduktion.  
[[http://www.svenskmjolk.se/ImageVault/Images/id\\_961/scope\\_128/ImageVaultHandler.aspx](http://www.svenskmjolk.se/ImageVault/Images/id_961/scope_128/ImageVaultHandler.aspx)] Avläst 2010-11-07

### **SWEDAC**

a. 2010. Frågor & svar. Styrelsen för ackreditering och teknisk kontroll.  
[<http://www.swedac.se/sv/Det-handlar-om-fortroende/FAQ/?faq=538&faqgroup=311#311>]. Avläst 2010-11-10.

b. 2010-09-17. Swedacs roll i samhällets kontroller. Styrelsen för ackreditering och teknisk kontroll. [<http://www.swedac.se/sv/Det-handlar-om-fortroende/Detta-gor-Swedac/Swedacs-roll-i-samhalles-kontroller/>]. Avläst 2010-11-10.

c. 2010-07-13. Marknadskontrollrådet. Styrelsen för ackreditering och teknisk kontroll.  
[<http://www.swedac.se/sv/Omraden/Marknadskontroll/Marknadskontrollradet/>]. Avläst 2010-11-10.



d. 2010-06-04. Varför ackreditering? Styrelsen för ackreditering och teknisk kontroll. [<http://www.swedac.se/sv/Det-handlar-om-fortroende/Vad-ar-ackreditering/Varfor-ackreditering/>]. Avläst 2010-11-10

### **10.3 Personliga meddelanden**

Sanders Rhiannon. Doktor i molekylärbiologi. Sanders communication training. 070-601 93 20. 10-01-27

Wallmark Stina. Market Research & Information Manager. GE Healthcare. 018-612 00 00. 10-05-10.

Matsson Per. Senior Scientific Advisor. Phadia. 018-16-50 00. 10-03-04.

## Bilaga 1: Q-lineas teknik: teknisk version

### Sammanfattning

Q-lineas instrument har till uppgift att kunna detektera och identifiera biologiskt material såsom bakterier, virus och toxiner genom att söka efter DNA-sekvenser och/eller epitoper. När man söker efter DNA-motiv består det första detektionssteget precis som i PCR av basparning mellan den sökta DNA-sekvensen och tillsatt primer, i det här fallet två primrar som utgör varsin ände på en ”hänglåsprob”. Vid detektion av proteiner används istället två antikroppar som binder till proteinet. Därefter genomförs ett amplifieringssteg för att skapa en lång DNA-polymer där varje monomer motsvarar den komplementära sekvensen till hänglåsproben. Genom att fästa flouororer på DNA-polymeren kan man med hjälp av laser och en kamera detektera varje individuell DNA-polymer som en lysande prick. I systemets grundutförande motsvarar varje DNA-polymer att en målmolekyl har hittats i provet. För att öka känsligheten och snabbheten på instrumentet finns det flera sätt att öka antalet framställda DNA-polymerer per målmolekyl men här presenteras grundutförandet. Eftersom processerna har en mycket hög specificitet och inte påverkas av primer-dimers som rtPCR så har instrumentet en förmåga att söka flera provsvar i samma prov (multiplexförmåga) och klarar även av att genomföra både DNA och proteindetektion i samma prov.

### Detektion av DNA-motiv

Vid detektion av DNA-motiv måste provet först prepareras för att hänglåsproben ska kunna binda till det enkelsträngade DNA:t. Detta steg genomförs i nuläget med kommersiella kit för PCR-analys och kommer i framtiden integreras i maskinen. Hänglåsproben är uppbyggd med två ca 20 baspar långa primersekvenser i ändarna. Dessa är utvalda så att hänglåsproben böjs till en cirkel då de två primerssekvenserna binder till DNA-motivet. Den totala bindande ytan är ungefär 40 baspar och hänglåsprobens storlek är totalt ca 90 baspar. Därutöver finns det i hänglåsproben ytterligare en sekvens för inbindning av en flouoror och en sekvens som möjliggör klyvning och primning.

För att kunna genomföra RCA (rolling circle amplification) måste hänglåsprobens 5' och 3' ände ligas ihop så att hänglåsproben bildar en DNA-cirkel. Ligaset som genomför denna ligering är särskilt i 3'-ändan mycket känslig för felaktig basparning mellan hänglåsproben och DNA-motivet, vilket är en av huvudanledningarna till att metoden har högre specificitet än PCR-baserade metoder. När cirkeln slutits amplifierar man sedan cirkeln med ett RCA-polymeras som binder in till den oparade primersekvensen och under amplifikationen frigör hänglåsproben från DNA-motivet. Eftersom polymeraset arbetar i en cirkel så upphör aldrig amplifikationen som den gör i en vanlig PCR. Resultatet blir därför en lång DNA-sträng där den komplementära sekvensen till hänglåsproben repeteras.

Därefter tillsätts en fluorofores som är bunden till en DNA-sekvens som basparar med en sekvens på hänglåsproben. Om RCA-polymeraset har fått tid att transkribera 1000 varv kan

alltså 1000 fluoroforer binda in till DNA-sekvensen vilket ger DNA-sekvensen en rejäl lyskraft då den belyses med laser i detektionsmodulen.

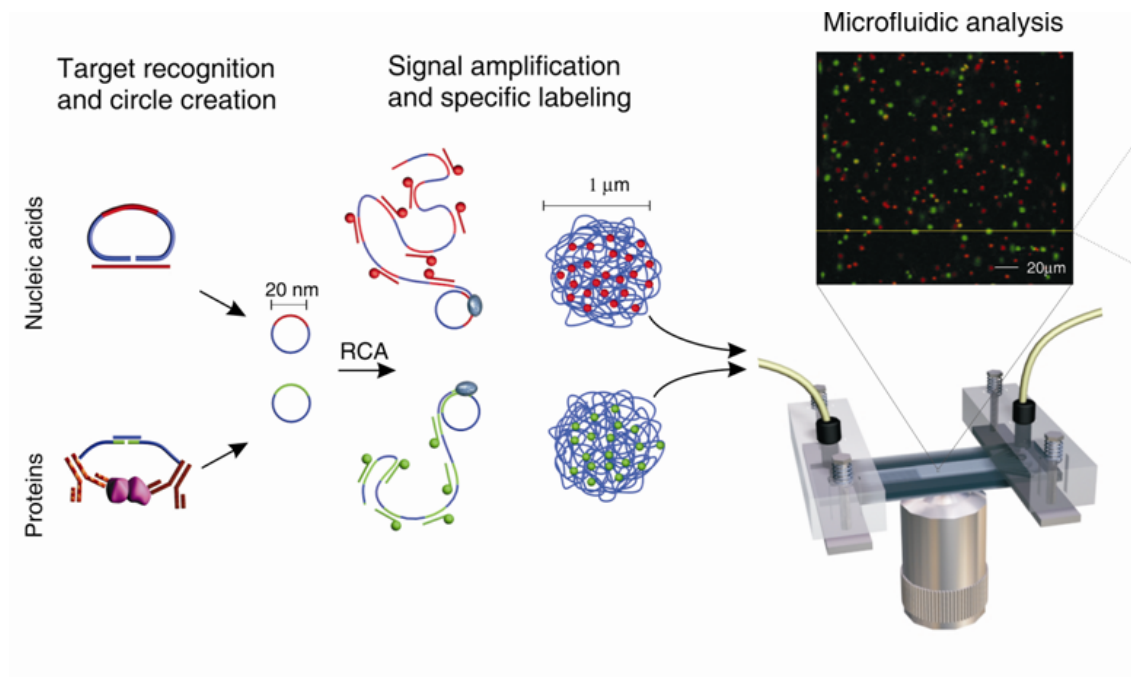
### Detektion av proteiner och andra epitoper

Vid detektion av proteiner och andra epitopbärande molekyler använder man två antikroppar istället för hänglåsproben. De två antikropparna binder till olika epitoper på proteinet och har i sin konstanta region en sekvens enkelsträngat DNA fastsatt. Därefter tillsätter man ytterligare två enkelsträngade DNA-sekvenser som tillsammans bildar en cirkel när de basparar med de två DNA-sekvenserna på antikropparna. Den här bindningen är mycket osannolik om inte de två antikropparna har bundit till ett och samma protein (alternativt en proteininteraktion) som därigenom för DNA-sekvenserna i närheten av varandra. De två tillsatta DNA-strängarna innehåller precis som hänglåsproben sekvenser för att RCA-polymeraset ska kunna binda och en sekvens för att binda den DNA-sekvens som är bunden till fluoroforen. När de två 5'-ändarna från de två tillsatta DNA-sekvenserna har ligerats ihop med de två 3'-ändarna kan sedan amplifikation fortsätta precis som i fallet med DNA motiv.

### Detektionsmodulen

I detektionsmodulen flödar provet igenom en kanal på 200x40 µm och belyses av lasrar med olika våglängder vilket möjliggör multiplexingen. Antalet provsvar som kan erhållas i ett prov är cirka 10 st kvantitativa. Ljuset som skickas ut från fluoroforena detekteras av en kamera som skickar bilderna till en dator som via bildanalys räknar antalet DNA-nystan. I det utförande som här har beskrivits motsvarar varje DNA-nystan en målmolekyl i provvolymen.

(Karman pers, Q-linea www:c)



Figur 1 Hela processen från inbindning av hänglåsproben till detektion av DNA-nystan med hjälp av bildanalys

## Bilaga 2 Veterinärmedicinska instanser:

Svenska Jordbruksverket

*Beviljar alternativt avslår veterinärlegitimationer. Distriktsveterinärerna, som är en enhet i SJV, är rikstäckande och tillgängliga dygnet runt. De har även ett centralt ansvar för landets smittskydd.*

Livsmedelsverket

*Ansvarar för köttkontroller på landets alla slakterier.*

Länsstyrelser

*Ansvarar för tillsyn av all veterinärverksamhet. De är även ansvariga för att utföra provtagning vid misstanke om epizooti.*

SVA

*Utgör Sveriges expert- och uppdragsmyndighet vad gäller veterinärdiagnostik. Övervakar och analyserar smittskyddsläget och utgör beredskapsmyndighet. Ansvarar även för avancerade analyser och diagnostisering.*

Veterinära ansvarsnämnden

*Utgör en fristående nämndmyndighet som har som sitt ansvar att utreda misstag som begåtts av veterinärer.*

SLU

*Utbildar veterinärer och utför forskning inom området.*

### Förebyggande organisationer:

Svenska djurhälsovården

*Organiserad hälsovård för nötkreatur, svin och får.*

Svensk mjölk

*Branschorganisation för Sveriges mjölkbönder. Ansvariga för ett antal kontrollprogram.*

Svensk fågel

*Branschorganisation för fjäderfäuppfödare.*

### Internationella organisationer:

Europeiska kommissionen

*Initierar ny gemenskapslagstiftning inom djurskydd, djurhälsa, växtskydd och säkra livsmedel.*

World organisation for animal health

*Arbetar för ett effektivt globalt smittskydd*

## Bilaga 3. Andra laboratorier

### **BioVet Aktiebolag**

Typ av analyser: Hispatologi, cytologi och lite antikroppsbedömning

Omsättning 5,8 Mkr

Resultat: 392 000 kr

<http://biovet.se/>

### **Canilab-EquiLab**

Typ av analyser: Klinisk kemi (proteinhalter), använder endast random access metoder

Omsättning: 6,3 Mkr

Resultat: 560 000 kr

<http://www.canilab.se/swe/index.htm>

### **Djursjukhuset Karlstad**

Typ av analyser: Bakteriologi

Omsättning: 30,7 Mkr

Resultat: -293 000 kr

<http://djursjukhusetkarlstad.se>

### **Eurofins Food and Agro AB**

Typ av analyser: I stort sett alla typer, framförallt bakteriologi och toxikologi

Omsättning: 193,8 Mkr (Sverige)

Resultat: 74 000 kr

<http://www.eurofins.se/>

### **IDEXX**

Typ av analyser: Kemi, hematologi och immunologi

Omsättning: 7 Gkr (världen, 1 \$ = 7 kr)

Resultat: 854 Mkr

<http://www.idexx.com>

### **LäckebyLab (en del av Läckeby djursjukhus)**

Typ av analyser: Serologi och PCR

Omsättning: 43,1 Mkr (hela djursjukhuset)

Resultat: 651 000 kr (hela djursjukhuset)

<http://www.lackebydjursjukhus.se/?p=67>

### **Mikrobiologen laboratorium**

Typ av analyser: Bakteriologi och mykologi

Omsättning: 2,8 Mkr

Resultat: 342 000 kr

<http://www.mikrobiologen.com>

**Cambridge Specialist Laboratory Services**

Hormone analysis and clinical chemistry

<http://thehormonelab.com/>

## Bilaga 4. Konkurrenter och deras huvudbudskap

Applied Biosystems www.appliedbiosystems.com	Standard PCR	MicroSEQ Food pathogen	Snabbhet, förberedda assayer, stängda provrör, preparation anpassad för ditt lab, programvaruintegration. Snabbhet, spädning minskar inhibitor effekt, homogen temperatur.	Begränsat antal veterinärdiagnostiska kit.
Alphahelix www.alphahelix.com	AmpXpress	Ospecifierat		Ej till för diagnostik.
Roche Applied Science www.roche-applied-science.com	Light-Cycler Carousel	Säljer flera olika polymeras, inte färdiga kit Salmonella, Brucella, Listeria, E. coli, salmonella, campylobacter, cryptosporidium	Hög funktion, flexibel, först med många funktioner.	Ej till för diagnostik.
Idaho technologies www.idahotech.com	R.A.P.I.D LT	Mul och klövsjuka, fågelinfluensa, Newcastlesjukan, svinfeber, afrikansk svinfeber, blåtunga	Frystorkade prover, fältmässighet, slippa återkalla produkter, bevisad pålitlighet.	Begränsat antal kit, mot matsäkerhet inte veterinärdiagnostik.
Smiths detection www.smithsdetection.com	Bio-Seeq Portable Veterinary Diagnostics System	Antibiotikaresistens och olika humansjukdomar	Patientnära analys, 5 PCR stationer, tål vätska, batteridrivnen, mycket smidigt provpreparation. Helautomatiserat, bra för sjukhus, kan detektera antibiotikaresistens inom 3 h.	Ej till för laboratorier. Inriktat på automatiserad humandiagnostik.
Cepheid www.cepheid.com	GeneXpert		Random access, separata block, hög känslighet, varje tub kan köra ett eget block, portabel, lägg till moduler med 16 platser.	
Cepheid www.cepheid.com	SmartCycler	Valfritt	Enkel, snabb, pålitlig, kortsystem för att spara personliga protokoll, kan koppla flera PCR till en dator.	Säljer instrument, inte reagens.
Eppendorf www.eppendorf.com	MasterCycler 1000-Series	Valfritt		
Bio-Rad www.bio-rad.com	Thermal Cyclers	Valfritt	Snabbt, användarvänlig och flexibel.	Säljer även reagens men inte kit.
Bioneer http://eng.bioneer.com	QPCR Diagnostic Vehicle	AccuPower	Nyskapande, klarar virus, bakterier, parasiter och biomarkörer, kätten är kompatibla med alla normal PCR maskiner, kätten är stabila och ger reproducerbara resultat.	En lätt lastbil med laboratorium i bak. Levererar mastermixar och kan även tillverka i bulk för speciella applikationer.
Stratagene www.stratagene.com	Stratagene Mx	Brilliant III Ultra-FastQPCR	Snabbhet med bibehållen kvalitet.	
			Rotation ger hög termisk och optisk förmåga, brett spektrum för fluroforer (IR till UV), användarvänlig programvara, kräver litet underhåll tack vare robust konstruktion, hög	

BioMérieux <a href="http://www.biomerieux-diagnostics.com">http://www.biomerieux-diagnostics.com</a>	VIDAS		Information saknas på hemsidan, svarar ej på mejl efter att jag meddelat syftet med undersökningen.	
BioMérieux <a href="http://www.biomerieux-diagnostics.com">http://www.biomerieux-diagnostics.com</a>	VITEK 2		Information saknas på hemsidan, svarar ej på mejl efter att jag meddelat syftet med undersökningen.	
BioMérieux <a href="http://www.biomerieux-diagnostics.com">http://www.biomerieux-diagnostics.com</a>	Diversilab		Information saknas på hemsidan, svarar ej på mejl efter att jag meddelat syftet med undersökningen.	
BioMérieux <a href="http://www.biomerieux-diagnostics.com">http://www.biomerieux-diagnostics.com</a>	BacTALERT		Information saknas på hemsidan, svarar ej på mejl efter att jag meddelat syftet med undersökningen.	
DuPont <a href="http://www.qualicon.com">www.qualicon.com</a>	Bax	BAX kit för vanliga matpatogener rtPCR kit för paratuberkolos, afrikansk svinpest, PRRS, viral encefalit (endast west nile virus), blåtunga, meliodos (mellelei och pseudomallei) samt får- & getkoppor. Kit för LAMP amplifiering krävs	Kraft att göra mer, precision, flexibilitet, kontroll, automatisering, 100 ggr känsligare än immunoassayer.	Påstår sig ge kvantitativa data.
Tetracore <a href="http://www.tetracore.com">www.tetracore.com</a>	Prototyp		PCR kit för farliga sjukdomar.	
Optigene <a href="http://www.optigene.co.uk">www.optigene.co.uk</a>	Genie II		Billigt, robust, lättanvänt och mobilt. Kombinerar high throughput och multiplex, klarar DNA/receptorer/immunoassayer/enzym, reproducerbarhet, bra precision.	Mobilt instrument som använder LAMP för amplifiering.
Luminex <a href="http://www.luminexcorp.com">www.luminexcorp.com</a>	MagPlex	xTAG	Kombinerar high throughput och multiplex, klarar DNA/receptorer/immunoassayer/enzym, reproducerbarhet, bra precision.	Samarbetar med SVA för kycklingassayer.
Luminex <a href="http://www.luminexcorp.com">www.luminexcorp.com</a>	Luminex 100/200	xTAG		Samarbetar med SVA för kycklingassayer.

Företag	Instrument	Kit	Top 5 budskap	Noteringar
EUROIMMUN <a href="http://www.euroimmun.com">http://www.euroimmun.com</a>	Analyzer I-2P	Valfritt	Multikompetent klarar autoimmuna, sjukdomar och allergianalys, över 800 validerade markörer att testa för, enkel att använda, klarar 50 test per timme, ger bra kundsupport.	<a href="http://www.euroimmun.com/fileadmin/template/images/pdf/Analyzer_I_2P_EN.pdf">http://www.euroimmun.com/fileadmin/template/images/pdf/Analyzer_I_2P_EN.pdf</a>



ZEUS Scientific <a href="http://www.zeusscientific.com">http://www.zeusscientific.com</a>	AIMS Triturus EIA Analyzer	xMAP mikrosfärer eller ELISA	Modulärt instrument som kan uppgraderas med både ELISA och AtheNA (använder Luminex mikrosfärer), sparar tid och pengar genom automatisering.	Modulärt instrument som kan uppgraderas med både ELISA och AtheNA (använder Luminex mikrosfärer).
Grifols <a href="http://www.grifols.com">www.grifols.com</a>		Valfritt	The first completely open, fully automated, multi-test, multi-batch immunoassay system.	
Dynex technologies <a href="http://www.dynextechnologies.com/">http://www.dynextechnologies.com/</a>	DS2 two plate	Valfritt	Pålitligt, kostnadseffektiv, lätt att underhålla. Klarar två 96 hålsplattor med upp till 12 olika assayer samtidigt	Väldigt liten.
Dynex technologies <a href="http://www.dynextechnologies.com/">http://www.dynextechnologies.com/</a>	DSX four plate	Valfritt	Pålitligt, kostnadseffektiv, lätt att underhålla. Klarar två 96 hålsplattor med upp till 12 olika assayer samtidigt.	
Bio-Rad <a href="http://www.bio-rad.com">www.bio-rad.com</a>	Evolis	Flera vanliga sjukdomar	Levereras med skärm och tangentbord.	Obefintlig marknadsföring.
Luminex <a href="http://www.luminexcorp.com">www.luminexcorp.com</a>	MagPlex	xTAG	Kombinerar high throughput och multiplex, klarar DNA/receptorer/immunoassayer/enzym, reproducerbarhet, bra precision.	Instrumentet klarar både DNA och antikroppsanalys.
Luminex <a href="http://www.luminexcorp.com">www.luminexcorp.com</a>	Luminex 100/200	xTAG	Kombinerar high throughput och multiplex, klarar DNA/receptorer/immunoassayer/enzym, reproducerbarhet, bra precision.	Instrumentet klarar både DNA och antikroppsanalys.

## Bilaga 5. Antal veterinärer i EU

**Tabell 1** Tabell över antalet veterinärer inom EU fördelat på land och den extrapolerade marknadspotentialen för Q-lineas instrument.

Land	Antal veterinärer	Antal instrument
Belgien	5500	29
Bulgarien	5080	27
Cypern	150	1
Danmark	2200	12
Estland	800	4
Finland	1300	7
Frankrike	13 000	68
FYROM	240	1
Grekland	2700	14
Irland	2000	11
Island	86	0
Italien	19 000	100
Kroatien	1100	7
Lettland	1400	10
Litauen	1928	1
Luxemburg	100	1
Malta	150	9
Norge	1700	50
Polen	9541	18
Portugal	3500	39
Rumänien	7400	18
Schweiz	3400	15
Slovakien	2800	5
Slovenien	1000	121
Spanien	23 000	78
Storbritannien	14 771	10
Sverige	1900	17
Tjeckien	3200	121
Tyskland	23 000	17
Ungern	3300	15
Österrike	2800	29
Totalt	156 946	826

### Referenser

FVE 2010. fve's strategy 2006-2010.

[[http://www.fve.org/news/publications/pdf/strategic\\_plan\\_2006.pdf](http://www.fve.org/news/publications/pdf/strategic_plan_2006.pdf)]. Avläst 2010-12-10.

## Bilaga 6, house of quality

### **Kundintervjuer, House of Qualitys vänstra vägg**

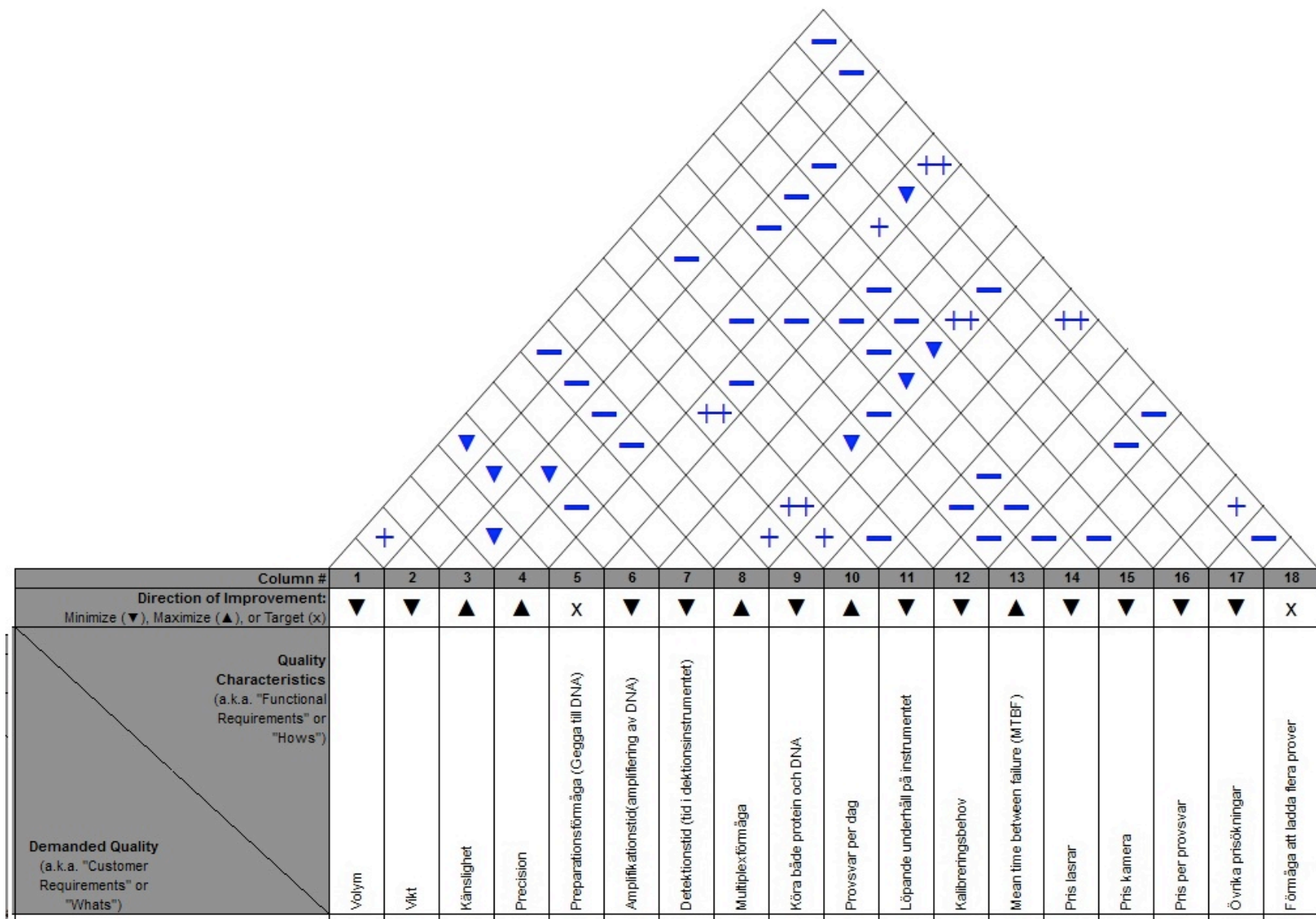
Intervjuer med kunder utgör House of Qualitys vänstra vägg. Målet är att kunna koppla samman kundernas behov med de tekniska begränsningar som finns och hur väl konkurrenterna uppfyller kundernas behov. På SVA där instrument köps in via särskilda anslag är priskänsligheten låg. Förutsatt att instrumentet har ett sådant genomflöde att laboratoriet kan finansiera instrumentet genom att äska pengar i syfte att öka krisberedskapsförmågan (intervju Juremalm). Andra aktörer saknar denna handlingsfrihet och har generellt även ett mindre antal prover att hantera vilket innebär att de har andra behov. Därför har kundsvaren delats upp i två kategorier, SVA och andra laboratorier.

## Kundbehov SVA

Row #	Max Relationship Value in Row	Relative Weight	Weight / Importance	<div> Quality Characteristics (a.k.a. "Functional Requirements" or "Hows") </div> <div> Demanded Quality (a.k.a. "Customer Requirements" or "Whats") </div>
1	9	6,3	9,0	Arbetsid per provsvar
2	3	9,7	14,0	Total analystid
3	9	6,3	9,0	Detekterar en liten mängd bakterier
4	9	8,3	12,0	Instrumentet ger få falska positiva utslag
5	9	9,7	14,0	Instrumentet klarar att köra många prover per dag
6	9	8,3	12,0	Instrumentet klarar av att köra flera prov samtidigt
7	9	8,3	12,0	Förmåga att testa både protein och DNA
8	9	0,0	0,0	Instrumentet ska vara mobilt
9	9	4,2	6,0	Pris för inköp
10	9	2,8	4,0	Pris per provsvar
11	9	4,2	6,0	Instrumentets underhållskostnader är låga
12	3	7,6	11,0	Förmåga att ge kvantitativa istället för kvalitativa data
13	9	6,9	10,0	Instrumentet kräver lite underhåll
14	9	9,7	14,0	Effektiv protokollföring
15	1	7,6	11,0	Klarar svåra provmaterial

Figur 1 Kundbehov hos SVA baserat på intervjuer med Louise Treiberg-Berndtsson och Mikael Juremalm. Värdena kommer ifrån de intervjuer som har genomförts och vikten har angetts på en skala 0-7 där 0 betyder ej relevant och 1-7 anger hur stor vikt den intervjuade lägger vid de olika behoven. Max relationship value visar hur starkt kopplade de olika egenskaperna är till olika tekniska egenskaper (1=liten påverkan, 3=medelstor påverkan och 9=stor påverkan). Vikten är summan av Louise och Mikael's bedömningar och den relativa vikten =  $[\text{utdelade poäng}] / 100 * [\text{vikten}]$  vilket normaliserar summan av vikterna till 100

## Tekniska begränsningar



Figur 2 Tekniska begränsningar. Symbolerna anger vilka funktioner som påverkar. En triangel innebär att en förbättring av en funktion kraftigt påverkar den andra funktionen negativt, minustecken en svagt negativ påverkan, plustecken en svagt positiv påverkan och dubbla plustecken kraftigt positiv inverkan. Riktningen på förbättringar anvisar om egenskapen är ett mål eller en kvantifierbar egenskap som bör vara så hög eller så låg som möjligt.

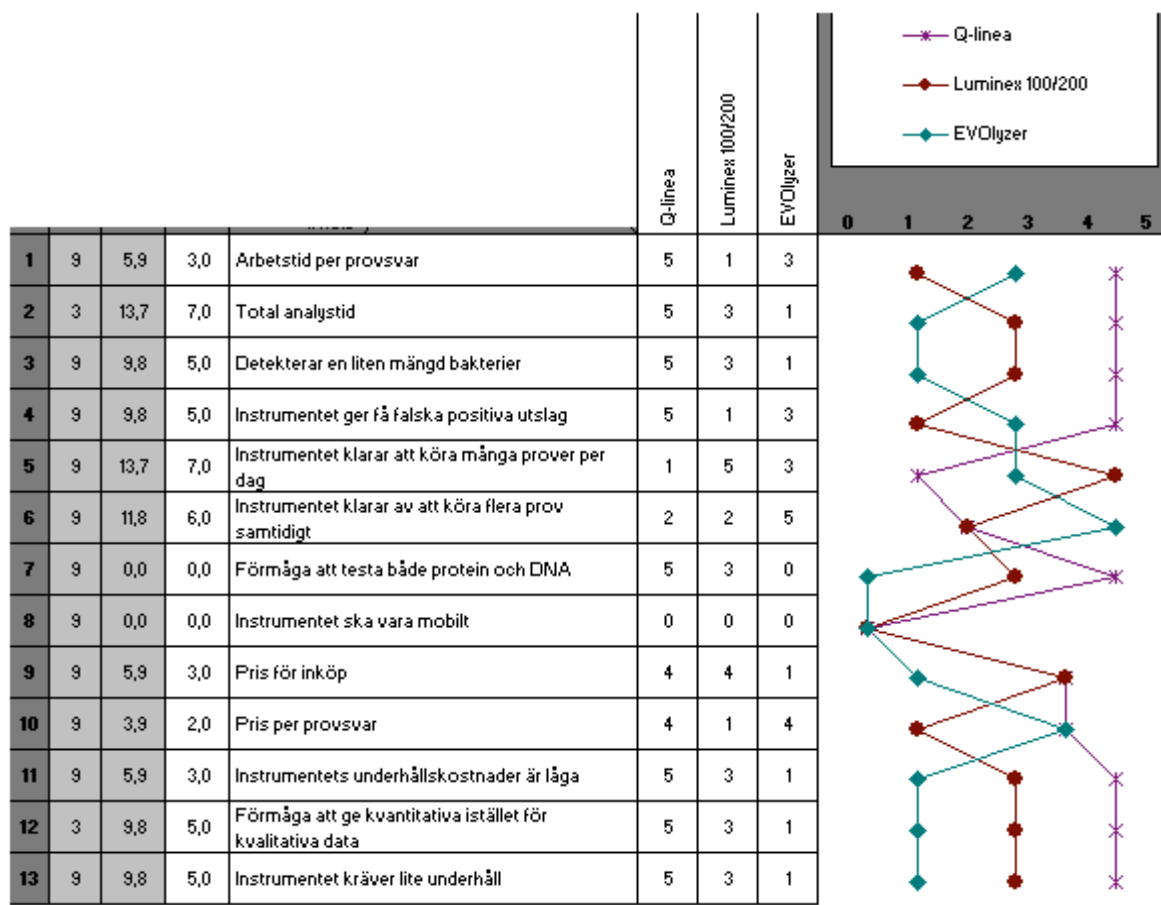
De tekniska begränsningarna har till syfte att för utvecklingsgruppen visa vilka tekniska avvägningar som *i nuläget* måste göras i arbetet. Ett exempel på detta är känslighet kontra precision, ett känsligt instrument måste ge utslag även på bara ett fåtal nystan. Detta ger en negativ påverkan på precisionen eftersom det är mer sannolikt att föroreningar ger upphov till ett litet antal felaktiga nystan-detektioner än ett stort antal. Den här typen av samband ger information om vilka delar av produktdesignen som det bör läggas särskilt stor vikt vid. Informationen ger även en överblick över sekundära samband, en minskning av amplifikationstiden skulle försämra instrumentets känslighet. Designteamet måste då fråga sig om följdverkningarna bör kompenseras genom att minska precisionskraven eller inte. Taket belyser även vilka förändringar som ger andra positiva följdverkningar. Ett instrument med multiplexförmåga (förmåga att detektera flera olika mikroorganismer i samma prov) har t.ex. en kraftigt positiv påverkan på antalet provsvar som kan levereras per dag. Eftersom antalet provsvar per dag är bland de viktigaste kraven från kunder. Innebär detta att det blir viktigt att väga mervärdet för kund gentemot kostnaderna för ett instrument med flera lasrar.

### **Konkurrenternas förmåga**

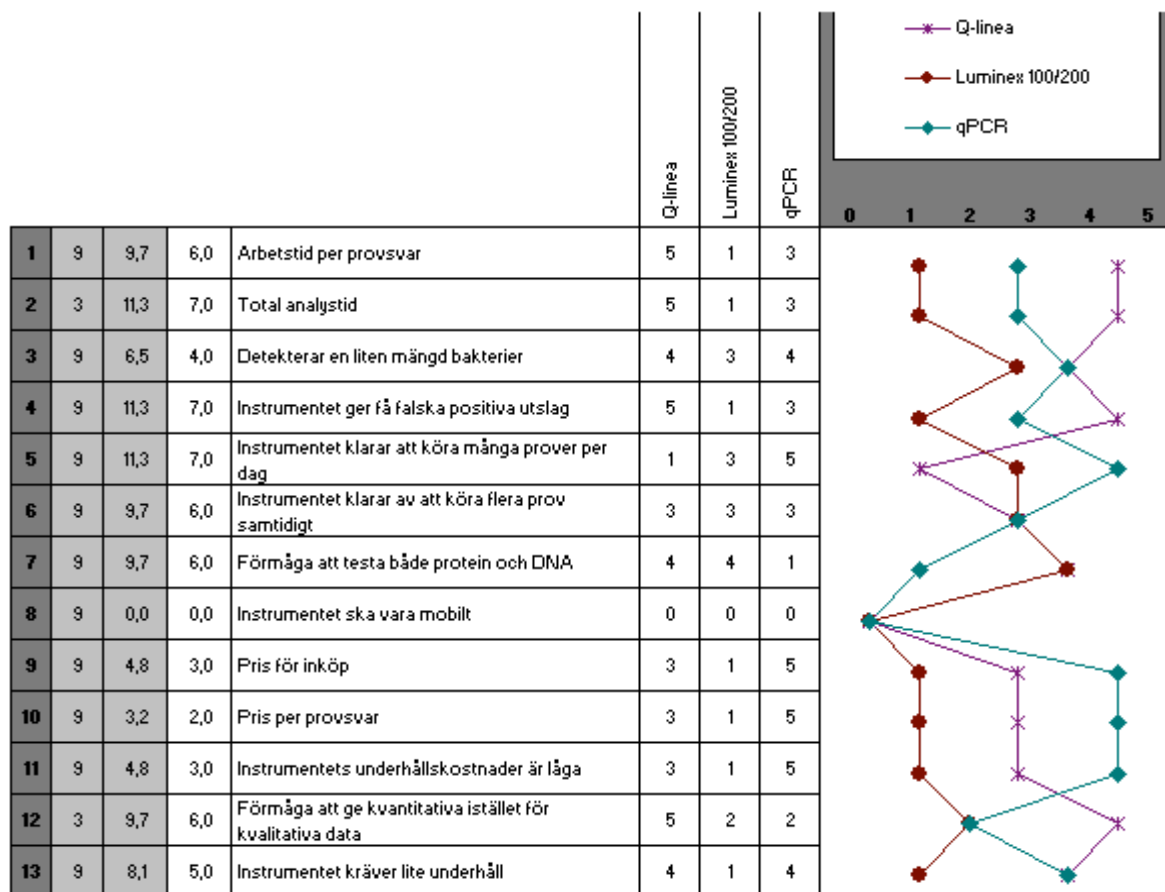
I den högra delen av the house of quality jämförs konkurrenternas förmåga med den egna produkten. Baserat på studien av kundernas behov går det sedan att analysera vilka tekniska funktioner som bör optimeras för att kundens behov ska tillfredställas bättre av den egna produkten än av konkurrenternas produkt.

För Q-linea innebär detta att fokus ligger på att utveckla ett instrument som kan leverera ett tillräckligt antal prover per dag med en användarvänlighet större än dagens instrument. Detektionsmodulen innebär här en stor svaghet eftersom det totala antalet prov per dag blir mindre än konkurrenternas trots att varje individuellt provsvar går fortare. Därför är det viktigt för Q-linea att diskutera antalet provsvar som instrumentet kan leverera snarare än antalet prover som instrumentet kan hantera.

Eftersom trenden inom veterinärdiagnostik går emot en ökad användning av provpaket (Juremalm, pers) blir det även naturligt att prata om antalet provsvar snarare än antalet prover. Q-linea får därigenom möjlighet att minimera effekterna av sin svagaste punkt (se figur 7 analys av konkurrenters förmåga inom antikroppsanalys och 8 analys av konkurrenters förmåga inom DNA-detektion) och får därigenom utrymme att fokusera på sina egna fördelar såsom kvantitativ analys och att analysen kräver lite manuellt arbete.



Figur 3 analys av konkurrenters förmåga inom antikroppsanalys. Data är tagna ifrån konkurrenttabellen i stycke #. Det instrument som är bäst i varje kategori erhöll 5 poäng, det näst bästa 3 poäng och den sämsta 1 poäng. Vid oavgjort har poängen delats så att två instrument har fått två eller fyra poäng. Som referens på hur de olika egenskaperna värderas utav potentiella kunder har information från kundintervjuerna även klippts in.



**Figur 4** Data är tagna ifrån konkurrenttabellen i stycke #. Det instrument som är bäst i varje kategori erhöill 5 poäng, det näst bästa 3 poäng och den sämsta 1 poäng. Vid oavgjort har poängen delats så att två instrument har fått två eller fyra poäng. Som referens på hur de olika egenskaperna värderas utav potentiella kunder har information från kundintervjuerna även klippts in.

För Q-linea innebär detta att fokus ligger på att utveckla ett instrument som kan leverera ett tillräckligt antal prover per dag med en användarvänlighet större än dagens instrument och stor skalbarhet via multiplexning med provpaktet. För dagens laboratorier utgör fasta kostnader och personalkostnader en sådan stor del av kostnaderna. Det kan därför vara lönsamt att öka antalet levererade provsvar per dag även om reagenskostnaderna ökar (se business case för vidare diskussion).



## Koppling, kunders behov och tekniska egenskaper

Row #	Max Relationship Value in Row	Relative Weight	Weight / Importance	<div> <div>Quality Characteristics (a.k.a. "Functional Requirements" or "How's")</div> <div>Demanded Quality (a.k.a. "Customer Requirements" or "Whats")</div> </div>	Volym	Vikt	Känslighet	Precision	Preparationsförmåga (Segga till DNA)	Amplifikationstid/amplifiering av DNA	Detektionstid (tid i dektionsinstrumentet)	Multiplexförmåga	Köra både protein och DNA	Provsvar per dag	Löpande underhåll på instrumentet	Kalibreringsbehov	Mean time between failure (MTBF)	Pris lasrar	Pris kamera	Pris per provsvar	Övriga prissökningar	Förmåga att ladda flera prover
1	9	9,7	6,0	Arbetsstid per provsvar					○			○			▲	▲						○
2	3	11,3	7,0	Total analysstid						○	▲											
3	9	6,5	4,0	Detekterar en liten mängd bakterier			○															
4	9	11,3	7,0	Instrumentet ger få falska positiva utslag				○														
5	9	11,3	7,0	Instrumentet klarar att köra många prover per dag										○								
6	9	9,7	6,0	Instrumentet klarar av att köra flera prov samtidigt	○																	○
7	9	9,7	6,0	Förmåga att testa både protein och DNA									○									
8	9	0,0	0,0	Instrumentet ska vara mobilt	○	○																
9	9	4,8	3,0	Pris för inköp														○	○		○	
10	9	3,2	2,0	Pris per provsvar					○			○								○		
11	9	4,8	3,0	Instrumentets underhållskostnader är låga											○	▲	▲					
12	3	9,7	6,0	Förmåga att ge kvantitativa istället för kvalitativa data						○		○										
13	9	8,1	5,0	Instrumentet kräver lite underhåll											○	○	○					

Figur 5 Sammankoppling mellan tekniska egenskaper och kunders behov. Cirkel med punkt i visar på ett starkt samband mellan den tekniska funktionen och ett kundbehov. En tom cirkel betyder att medelstarkt samband och en triangel ett svagt samband. Dessa värden avspeglas även i vänstra delen av bilden där det högsta värdet på avspeglas i "max relationship value".